SÉRIE E
N° d'ordre 219

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

R. PFIRSCH

1re THÈSE

RECHERCHES SUR LES ACTIONS MÉCANIQUES DES ULTRA-SONS DANS LES TISSUS VÉGÉTAUX

2e THÈSE

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 7 Juin 1962 devant la Commission d'examen :

MM. J. VIVIEN ..... **PRESIDENT**
H.J. MARESQUELLE
L. HIRTH } **EXAMINATEURS**
A. DOGNON

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548001_0025

SÉRIE E
N° d'ordre 219

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

R. PFIRSCH

1re THÈSE

RECHERCHES SUR LES ACTIONS MÉCANIQUES DES ULTRA-SONS DANS LES TISSUS VÉGÉTAUX

2e THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 7 Juin 1962 devant la Commission d'examen :

MM. J. VIVIEN ..... **PRESIDENT**

H.J. MARESQUELLE
L. HIRTH
A. DOGNON } **EXAMINATEURS**

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE STRASBOURG

-=-=-

Doyen : Professeur J.H. Vivien.

Doyens Honoraires : A. Danjon, A. Kirrmann, P. Lacroute, H.J. Maresquelle.

Professeurs Honoraires : Ed. Bauer, P. de Beauchamp, L. Bounoure, A. Chretien, H. Cartan, Cl. Chabauty, A. Danjon, J. Deny, Ch. Ehresmann, M. Frechet, G. Foëx, H. Gault, L. Hackspill, A. Hée, Mme A. Hée, R. Hocart, A. Kirrmann, G. Lemée, P. L'Héritier, A. Lichnerowicz, L. Neel, H. Ollivier, G. Ribaud, E. Terroine, R. Thiry, H. Villat, Et. Wolff.

Professeurs :

H. Weiss ...	T.	Physico-chimie des Hydrocarbures
G. Hugel	T.	Chimie du Pétrole
R. Bonnet	T.	Chimie Biologique
H.J. Maresquelle	T.	Biologie végétale
A. Roussel	T.	Calcul différentiel et intégral et Théorie des fonctions
H. Forestier	T.	Chimie générale
Ch. Sadron	T.	Physico-chimie Macromoléculaire
J. Rothé	T.	Physique du Globe
P. Lacroute	T.	Astronomie
J.H. Vivien	T.	Zoologie et Embryologie expérimentale
L. Boisselet	T.	Chimie analytique du Pétrole
A. Maillard	T.T.P.	Chimie
S. Gorodetzky	T.	Physique générale et Physique nucléaire
L. Sackmann	T.T.P.	Mécanique des Fluides
J. Byé	T.	Chimie minérale et Chimie Physique
R. Lombard	T.	Chimie organique
Melle M. Perey	T.	Chimie nucléaire
Ph. Pluvinage	T.	Physique expérimentale
S. Goldsztaub	T.	Minéralogie et Pétrographie
P. Jooy	T.	Biologie générale
H. Benoît	T.	Physique générale
J.L. Koszul	T.	Topologie
P. Cuer	T.	Physique générale et Physique Corpusculaire
G. Millot	T.	Géologie et Paléontologie

R. Lecolazet	T.T.P.	Physique du Globe
H. Saucier	T.T.P.	Minéralogie
R. Rohmer	T.T.P.	Chimie
Melle Gillet S.	T.T.P.	Paléontologie
Melle Gagnieu A.	T.T.P.	Botanique
R. Thom	T.	Analyse supérieure
S. Nikitine	T.	Physique générale
F. Stutinsky	T.	Physiologie générale
B. Wurtz	P.S.C.	Chimie biologique
J. Brenet	T.T.P.	Chimie physique
G. Ourisson	T.T.P.	Chimie
Fr. Stephan	P.S.C.	Zoologie
Cl. Levi	T.T.P.	Biologie générale
A. Coche	T.T.P.	Physique nucléaire
R. Cerf	T.T.P.	Physique
M. Berger	T.T.P.	Mathématiques
J. Frenkel	T.T.P.	Mathématiques
P. Taglang	T.	Physique
J.P. Lonchamp	P.S.C.	Physique
J. Boscher	P.S.C.	Mécanique des Fluides
A. Deluzarche	T.T.P.	Chimie
J.B. Donnet	T.T.P.	Chimie physique
R. Armbruster	P.S.C.	Physique
A. Roche	P.S.C.	Physique du Globe
L. Hirth	T.	Microbiologie
J. Yoccoz	T.	Physique théorique

Maîtres de Conférences :

J. Parrod	Chimie
A. Sigot	Zoologie
J. Cogne	Géologie
R. Wey	Chimie
J. Wucher	Physique
A. Fuchs	Mathématiques
Mme D. Magnac	Physique
Mme M. Brini	Chimie
A. Gallmann	Physique
M. Daune	Physique
J.P. Adloff	Chimie nucléaire
P. Miahle	Physiologie animale
J. Grémillard	Mathématiques
G. Perny	Physique

J. Levisalles	Chimie
D. Bernard	Méthodes mathématiques de la Physique
R. Baro	Physique
G. Lapraz	Botanique
H. Danan	Physique
M. Zisman	Mathématiques
E. Daniel	Physique
F. Norguet	Mathématiques
P. Chevallier	Physique
J. Leray	Physique
H. Duranton	Botanique
R. Weiss	Chimie
P. Cartier	Mathématiques

Secrétaire : G. Saint-Pé.

AVANT - PROPOS

Les recherches que j'ai entreprises, en vue de l'élaboration du présent travail, ont été effectuées au Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de Strasbourg auquel j'ai été affecté depuis octobre 1954 en qualité d'attaché de recherches du C.N.R.S.

Il m'est un devoir agréable d'exprimer ici ma respectueuse et profonde reconnaissance à Monsieur le Doyen Maresquelle, Directeur de l'Institut de Botanique de Strasbourg, qui, depuis près de dix ans, n'a cessé de me guider et de me conseiller, les très nombreux moments de discussions fructueuses que j'ai eus avec lui m'ont été d'un très grand secours.

J'adresse mes très vifs remerciements à Monsieur le Professeur Dognon, qui a bien voulu accepter de parrainer mes recherches au C.N.R.S. Ses travaux dans le domaine de l'ultra-sonique m'ont souvent servi de guide, ses critiques et conseils, ainsi que l'intérêt qu'il a porté à mon travail, m'ont été très précieux et profitables.

Je remercie très vivement Monsieur le Professeur R. Heim, Membre de l'Institut, d'avoir eu l'obligeance, durant les années passées, de présenter à l'Académie des Sciences les Notes préliminaires concernant les résultats que j'ai obtenus. J'adresse aussi à Monsieur le Doyen Vivien mes sincères remerciements d'avoir bien voulu s'intéresser à mon travail.

Je suis reconnaissant à Monsieur le Professeur Hirth pour ses utiles et pertinentes critiques ainsi que pour ses conseils concernant certaines parties de ce travail, je lui exprime ici mes sentiments de profonde gratitude.

J'exprime également ma reconnaissance à Monsieur le Professeur Goldsztaub, Directeur de l'Institut de Minéralogie de Strasbourg, dans mes premières années de chercheur il m'a fait utilement profiter de sa compétence et m'a conseillé et encouragé dans mon travail.

Ma reconnaissance va également à tous mes amis et camarades de l'Institut de Botanique, quel que soit leur grade ou fonction, chacun d'eux m'a, un jour ou l'autre, rendu service, je leur adresse à tous l'expression de ma sincère gratitude.

INTRODUCTION

GENERALITES SUR LES ULTRA SONS.

PRINCIPAUX EFFETS PHYSIQUES DES ULTRA SONS.

ACTIONS BIOLOGIQUES DES ULTRA SONS.

DIVERS PRINCIPES ADMIS, ORIENTATION DU PRESENT TRAVAIL.

METHODES PHYSIQUES.

GENERALITES SUR LES ULTRA-SONS

On désigne par ultra-sons les vibrations des gaz, des liquides des solides dont la fréquence est supérieure à la limite d audibilité de l homme. Les ondes sonores perçues par l'oreille humaine ne dépassent guère la fréquence de 18000 périodes par secondes au delà s'étend le domaine des ultra-sons. Des méthodes récentes de production permettent d atteindre des fréquences de l'ordre du million de kilocycles.

Dans ce vaste spectre ultra-sonore composé de vibrations mécaniques artificielles nous trouvons aussi des vibrations d origine naturelle. Les chauve souris s'orientent dans leur vol en émettant à intervalles réguliers des cris et se dirigent selon l écho reçu avec une grande précision. Les espèces particulièrement étudiées appartiennent aux familles des Vespertilionidées et des Rhinolophes. La fréquence des cris émis se situe, selon les espèces entre 30 et 120 kc (GALAMBOS R. 1942, GRIFFIN D.R 1946 GRIFFIN D R. et GRINNELL A.D. 1958, MOHRES F.P et KULZER E. 1956, PIELEMEYER W.H 1949). Nombreux sont les animaux qui émettent et perçoivent des vibrations dont la fréquence s étale de 20 à 200 Kc. BUSNEL et CHAVASSE (1950) ont détecté les ultra sons émis par de nombreux Insectes Orthoptères. La cigale émet des vibrations dans la gamme audible, 10 à 15 Kc et en plus des ultra sons répartis dans les bandes de 25, 40 et 70 Kc. ROSE SAVORIN CASANOVA (1948), étudient les ultra sons émis par les abeilles, les guêpes. SCHALLER et TIMM (1949) font les mêmes observations chez les Lépidoptères, chez certaines espèces ils constatent une réaction à la fréquence de 175 Kc.

C'est à KONIG, en 1899, que remontent les premières recherches dans le domaine de l'ultra-sonique, mais ce n'est que plus tard, après les travaux de De FOREST en 1905, LANGEVIN 1916 FLORISSON 1923, CHILOWSKY 1918, que cette nouvelle science prit son essor. Ces chercheurs ont résolu le problème de la produc

tion des ultra sons par l électronique conversion facile de la puissance électrique en puissance acoustique. Les travaux de PIERCE (1925) et de WOOD et LOOMIS (1927) sont à l origine des nombreuses recherches effectuées dans ce domaine et l on voit les études se poursuivre en diverses directions études des effets physiques et techniques de mesure étude des effets chimiques étude des effets biologiques A l heure actuelle les connaissances acquises sur la physique de ces vibrations permettent la réalisation de nombreuses applications des ultra sons à la technique moderne sondages sous marins controle de pièces mécaniques par écho précipitation de fumées émulsions à grains fins soudure de l aluminium etc. Dans le domaine de la biologie les connaissances actuelles sur le mode d action de ce type de rayonnement sont encore insuffisantes pour en permettre une application aussi large que dans le domaine de la physique.

Production des ultra-sons

Les procédés de production d ultra sons sont très variés et peuvent selon leur principe etre classés en deux groupes générateurs mécaniques et électro mécaniques générateurs électriques et électro-magnétiques.

Dans la première catégorie les générateurs les plus importants sont les sifflets et les sirènes. GALTON réalisa dès 1883 un sifflet à air comprimé qui permettait la production d'ultra-sons d une fréquence de l ordre de 25.000 périodes Par la suite ce type de sifflet a été perfectionné dans le but d'élargir la gamme de fréquence et de produire de plus grandes intensités ultra sonores. Parmi les nombreuses réalisations les plus importantes sont celles de EDELMAN, LEVAVASSEUR HARTMANN PALME. Ces appareils sont utilisables lorsqu il s agit d émettre des ultra sons dans l air. POHLMAN et JANOWSKY ont réussi à produire des ultra sons dans une cuve d eau en réalisant un sifflet à eau fonctionnant selon un principe analogue à celui des sifflets à gaz. Les fréquences obtenues à l aide de ces divers types de sifflets se situent entre 20 et 100 Kc. Les sirènes ultra sonores permettent de produire dans la meme gamme de fréquences des puissances plus importantes Grace à ses performances ce type de générateur se prete particulièrement bien à des usages industriels pour des traitements dans l'air et dans les gaz.

Dans le deuxième groupe de générateurs électriques et électro-magnétiques les différents types d'appareils comportent un générateur électronique d'oscillations à fréquence élevée agissant sur un traducteur qui transforme ces oscillations en vibrations mécaniques. Les générateurs les plus fréquemment utilisés dans cette catégorie sont de trois types

les générateurs à magnéto striction un barreau de ferro nickel subit lorsqu'il est placé dans le champ magnétique d'un solénoide une faible variation de longueur. Si la fréquence du champ magnétique est en résonance avec la fréquence propre du barreau l'effet produit devient important Ce type de générateur est utilisé pour l'émission d'ultra-sons de fréquence relativement basse (20 à 100 Kc) dans des gaz ou dans des liquides.

les générateurs électro dynamiques dans ces appareils le traducteur fonctionne sur le même principe que le haut-parleur électro dynamique Des fréquences de l'ordre de 25 à 75 Kc sont produites par un cylindre en aluminium ou en laiton disposé à la place de la membrane conique d'un haut-parleur.

les générateurs piezo électriques le traducteur est constitué d'une lame de quartz taillée dans un cristal normalement à son axe électrique Si l'on applique sur les deux faces de la lame une différence de potentiel alternative cette lame subit des compressions et dilatations alternatives. Une forte amplification des mouvements se produit lorsqu'il y a résonance entre la période propre de la lame et la fréquence de la tension d'excitation. Selon l'épaisseur de la lame il est possible de produire des fréquences ultra-sonores d'environ 200 à 10000 Kc.

PRINCIPAUX EFFETS PHYSIQUES DES ULTRA SONS

Au cours des expériences destinées à des recherches sur l'action biologique des ultra sons, on est le plus souvent amené à traiter des cellules ou tissus dans une cuve contenant de l'eau soumise à la vibration Nous citons les effets essentiels qui se manifestent dans une cuve de traitement lors du passage d'un faisceau d'ultra-sons.

a) ***Pression alternative***

L'énergie ultra-sonore se propage dans le milieu liquide comme une pression mécanique alternative de fréquence élevée

Dans le cas d'une cuve de dimensions réduites il s'établit un régime d'ondes stationnaires qui entraîne l'immobilité des zones de pression et des zones de dépression. Pour une énergie de $1 W/cm^2$ la pression atteinte est de l'ordre de 1,7 Kg/cm^2 Comme on opère en système d'ondes stationnaires cette pression est doublée et du fait que les récipients utilisés n'ont pas de forme géométrique parfaite, des foyers de concentration d'énergie se produisent et les valeurs atteintes peuvent être localement de l'ordre d'une cinquantaine de Kg/cm^2 (DOGNON, BIANCANI, 1937).

b) *Pression de radiation*

Lorsque les ultra-sons atteignent la surface de séparation de deux milieux d'indices différents, ils y développent une certaine pression qui dépend de la différence des densités d'énergie qui existent de chaque côté de la surface. Si celle-ci est totalement réfléchissante la pression atteint sa valeur maximum et est égale à deux fois la densité d'énergie Dans le cas d'une surface de séparation air-eau, la pression de radiation, développée dans les conditions d'intensité ultra-sonore usuelles, est de l'ordre du gramme par cm^2 (BERGMANN 1954)

c) *Effets thermiques*

Une cuve remplie d'eau et soumise à la vibration subit une augmentation globale de température par absorption et transformation d'énergie mécanique en énergie calorifique. Cet effet est amplifié par les phénomènes de réflexion qui se produisent à la surface de séparation eau air et au niveau des parois Cet échauffement, important, augmente en fonction du temps et croît avec la fréquence ultra-sonore (BERGMANN 1954) D'autre part, si deux milieux dans lesquels la vibration se transmet avec des amplitudes de mouvement différentes sont en contact, les amplitudes de vitesse des particules sont également différentes il s'en suit un échauffement de friction, fonction des différences d'impédance acoustique. Cet échauffement se manifeste dans toute matière non homogène.

d) *Cavitation*

En hydrodynamique on entend par cavitation la formation de cavités gazeuses consécutive à une forte tension au sein du liquide Dans le cas d'un liquide traversé par un faisceau d'ultra-sons d'intensité suffisante, la cavitation se produit

à la suite des dépressions locales Ces cavités se referment brutalement en libérant une forte énergie Lorsqu'une bulle gazeuse se résorbe, la vitesse à laquelle elle diminue de volume est inversement proportionnelle au carré du rayon de la bulle. donc si le rayon R tend vers zéro. la vitesse V tend vers l'infini Au moment de la disparition de la bulle cette vitesse élevée se trouve bloquée brutalement et libère de ce fait une énergie cinétique importante sur un espace extrêmement réduit Cette énergie se manifeste sous forme d'une onde de choc et partiellement sous forme thermique Selon l'origine des gaz dont sont formées ces bulles on distingue deux types de cavitation si l'eau contient des gaz dissous les dépressions produites entraînent une diminution de leur solubilité et il s'en suit un dégagement de bulles, on donne le nom de pseudo-cavitation à ce phénomène Par contre, des bulles qui se forment dans une eau parfaitement dégazée ne peuvent prendre naissance que par rupture de la force de cohésion de l'eau, ce sont des bulles de vapeur dites bulles de vraie cavitation L'énergie ultra-sonore nécessaire à cette forme de cavitation est plus élevée et augmente rapidement avec la fréquence Selon **ESCHE** (1952), 0,16 à 2 6 W/cm^2 à 15 Kc et 100 à 400 W/cm^2 à 500 Kc Dans les conditions habituelles la vraie cavitation ne se produit qu aux fréquences relativement basses de l'ordre de 20 Kc.

A ces divers effets, d'ordre primaire, s'ajoutent quelques effets secondaires, liés au phénomène de la cavitation. Nous pouvons les classer en effets chimiques et effets mécaniques

Les effets chimiques peuvent être classés en trois catégories (**DOGNON** 1953)

- les réactions d'oxydation,
- la dénaturation des protides,
- la fragmentation de macromolécules.

On admet jusqu à présent que tous ces phénomènes sont sous la dépendance de la cavitation Les études détaillées de **GRABAR** et **PRUDHOMME** (1948, 1949) le démontrent en particulier pour les réactions d'oxydation Les effets mécaniques sont, par leur nombre, les plus importants, ils sont à la base des diverses applications de l'ultra-sonique à la technique Parmi les plus importants il y a lieu de citer les effets de dispersion ou d'agrégation, hémolyse, bactériolyse, cytolyse, mouvements tourbillonnaires intra-cellulaires.

ACTION BIOLOGIQUE DES ULTRA SONS

Depuis une trentaine d années les ultra sons font l objet de nombreuses études et recherches dans le domaine de la biologie et de la médecine En ce qui concerne la thérapeuthique POHL MANN (1939) plus tard en collaboration avec RICHTER et PAROW (1939), attire l attention sur l utilisation de ce type de rayonnement. Depuis cette époque les applications des ultra sons en médecine se sont multipliées traitement des cavernes tu berculeuses paralysies et atrophies musculaires affections névriques et rumathoides. Il est certain que dans bien des cas ces vibrations sont des agents thérapeutiques excellents mais il n en est pas moins vrai que dans d autres cas ces traitements sont inefficaces et que leurs conséquences ne correspondent pas aux résultats attendus.

Les travaux réalisés dans le domaine de la biologie végétale sont particulièrement nombreux et variés. Beaucoup de chercheurs se sont intéressés à l étude de l action des ultra sons sur la germination et la croissance de diverses plantes. En confrontant les résultats obtenus par les divers auteurs on est frappé par les fréquentes contradictions. Pour certains ISTOMINA et OSTROVSKY (1936), DAWIDOW (1936), RUBAN et DOLGOPOLOW (1952) l action est nettement stimulante la vitesse et le pouvoir de germination sont augmentés la croissance des racines et des plantules est accélérée la floraison rendue plus précoce. Des betteraves issues de graines traitées révèlent une augmentation de poids de l ordre de 45 % (DAWIDOW, 1936). D autres chercheurs obtiennent des résultats inverses absence d action ou plus souvent inhibition (STOCKEBRANDT 1952 LOZA 1949 BERCY 1951, HASKELL et SELMAN 1950 BACHNER 1950). HESSE (1952) explique cette différence d action par les intensités ultra sonores uti lisées durant les traitements .l effet est inhibiteur lorsque les intensités sont fortes et les temps de traitement longs la stimulation est possible lorsque les intensités sont faibles.

Cette notion de doses biopositives ou bionégatives ne se li mite pas aux exemples précédents .L action des ultra sons sur des cultures de bactéries ou de virus se traduit selon les temps et intensités de traitement soit par des diminutions de

virulence dues à des phénomènes d agglutination des cellules soit par la multiplication des souches consécutive à un traite ment à faible dose. BECKEWITH et WEAVER (1936) de méme que YAWOI et NAKAHARA (1934) interprètent cette action positive par un effet mécanique de la vibration qui tend à disséminer les amas de cellules bactériennes et faciliter ainsi la forma tion de nouvelles colonies. FUCHTBAUER et THEISMANN (1949) HOMPESCH (1950), sont du même avis.

Les travaux de ROUYER et CRABAR (1945) VELTMANN et WOEBER (1950) HAMBRE (1949) mettent en évidence qu un effet négatif inhibiteur ou destructeur est lié à la cavitation et réalisé par l intermédiaire d effets mécaniques l effet thermique n in tervient que secondairement (HAUSSMANN KEHLER KOCH 1952).

Certains chercheurs observent au microscope le comportement de la cellule durant le traitement aux ultra sons HARVEY et LOOMIS (1931) décrivent les tourbillons intracellulaires d une feuille d *Elodea* HERCIK RDLICKA et SPINDRICH (1942) étudient le comportement des cellules épidermiques d *Allium*; KUSTER sou met aux ultra sons des types cellulaires variés (*Spirogyra Elo dea Allium Nitella Funaria*) et observe par la suite au mi croscope les perturbations subies Ces auteurs constatent que l action des ultra-sons se traduit par des altérations de la structure du cytoplasme et des noyaux variables selon les temps et intensités de traitement différents selon le type cellulai re. Les ultra-sons semblent agir essentiellement par voie mé canique.

GOLDMANN et LEPESCHKIN (1952) traitent des filaments de *Spi rogyra* en système d ondes stationnaires en cas de cavitation les cellules situées au niveau des ventres de pression (c est là qu apparaissent au moment de leur formation les bulles de cavitation) sont d abord détruites en l absence de cavitation les perturbations sont moins importantes et ont lieu aux noeuds de pression.

DOGNON et BIANCANI DOGNON et SIMONOT ont étudié le méca nisme d action des ultra sons par des expériences sur l hémo lyse. Les globules rouges en suspension isotonique sont ex trèmement sensibles à la vibration. L'effet de destruction est dû à la cavitation l action devient nulle lorsqu on supprime la cavitation soit par dégazage, soit par une élévation de la pression, soit en augmentant la concentration des globules au delà d un certain seuil. ACKERMANN (1952) constate un maximum d action sur les globules pour des fréquences situées entre

300 et 600 Kc et établit un rapport avec la résonance des cellules. RUST et FEINDT (1951) interprètent l action sur les globules rouges par la résonance des bulles de cavitation.

Ces quelques exemples d'effets biologiques produits par les ultra-sons mettent en évidence les difficultés d interprétation du mode d'action de ce type de rayonnement. Pour certains auteurs, le facteur essentiel responsable d'une action est la cavitation, pour d autres les effets positifs ou négatifs sont liés à l intensité ultra-sonore mise en jeu. Ces considérations à elles seules ne sont certainement pas suffisantes ou du moins ne peuvent pas être généralisées les divers effets physiques liés à la vibration intervenant simultanément. Dans une certaine mesure il est pourtant possible d isoler un ou plusieurs facteurs et d'étudier les variations corrélatives sur un test donné. Si un meme facteur agit d'une manière analogue sur des tests variés, nous pouvons lui attribuer une signification précise.

Dans le présent travail nous avons essayé de discriminer ainsi les mécanismes et nous avons particulièrement étudié le rôle des phases gazeuses sous leurs différentes formes, l'expérience nous ayant montré que par leurs effets mécaniques elles jouent un rôle prépondérant dans certaines actions biologiques des ultra-sons.

METHODES PHYSIQUES

Nos premières observations et expériences ont été réalisées à l'aide d'un générateur d'ultra-sons construit par la Société Siemens. Cet appareil peut fournir à la fréquence de 350 Kc, une intensité de l ordre de 6 W/cm^2 délivrée par un quartz circulaire de 6 cm de diamètre utile. Le cristal est monté horizontalement dans un bain d huile réfrigéré par un système de circulation d'eau.

Par la suite nous avons augmenté et amélioré nos possibilités d'investigation en réalisant un ensemble constitué d'un générateur à fréquences multiples, de quartz résonant à diverses fréquences, d'une cuve de traitement appropriée.

La production du courant haute fréquence est réalisée par un oscillateur classique à self et capacité (Fig. 1). La self est interchangeable pour chaque fréquence un bobinage comportant

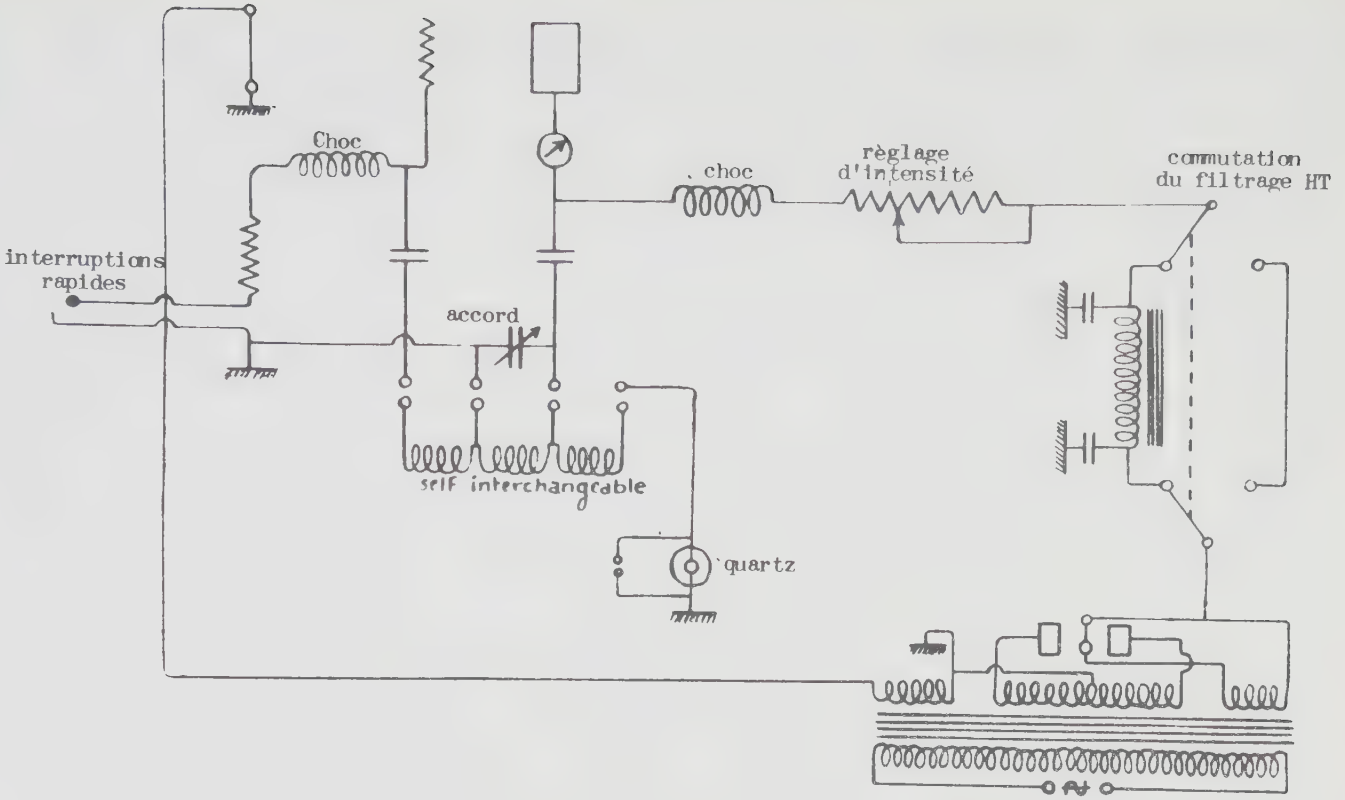

Fig. 1 - Générateur d'ultra-sons à fréquences multiples.

les circuits grille, plaque et adaptation d impédance. l accord se fait par un condensateur variable. Le réglage d intensité se fait par variation de la tension anodique. la mesure par lec ture de l'intensité anodique. Les quartz utilisés avec ce géné rateur sont du type projecteur à poignée destinés à des usages thérapeutiques. Nous disposons avec ce montage des fréquences de 350. 1000 et 3000 Kc. L intensité maxima délivrée est de l'ordre de 4 W/cm^2.

Pour observer au microscope à divers grossissements des cellules ou tissus durant l irradiation, nous avons réalisé une cuve en laiton qui s adapte aux quartz. Cette cuve a 12 cm de long. 4 cm de coté. 2 cm de haut. Le fond est formé d une pla que de verre d épaisseur comparable à celle d une lame porte ob jet. Les parois latérales sont remplacées par des feuilles min ces de cellophane fixées par collage. Cet ensemble est disposé sur la platine du microscope. L objet à examiner est placé au fond de la cuve. remplie d eau. et maintenu en place par des fragments de lamelles couvre objet, disposées en dehors du champ de l objectif. Une circulation d eau est prévue pour éviter l échauffement. Le quartz du générateur d ultra sons est appliqué sur l une des faces latérales. une faible couche d huile inter posée assure une bonne transmission d énergie. Si nous voulons observer l action de différentes fréquences il nous suffit de changer le quartz et d accorder le circuit oscillant du géné rateur à la fréquence choisie. Dans ces conditions l examen microscopique (objectifs à immersion dans l eau) ne présente aucune difficulté.

Il est à prévoir que des systèmes d ondes stationnaires se développent dans cette cuve. Nous avons vérifié ceci en ajoutant à l eau de la cuve des particules solides de petite dimension (alumine. poudre abrasive). L expérience montre qu une locali sation des particules (concentration dans les ventres de vibra tion) ne se produit nettement que dans la région située entre la source d ultra sons et l objectif du microscope. celui ci, lorsqu'il est immergé. joue le role de réflecteur. Par contre dans la zone située dans le champ optique de l'objectif. région qui nous intéresse particulièrement. les particules solides se répartissent de façon homogène. marquant ainsi l'absence de concentration d'énergie localisée.

Ce montage, assez satisfaisant en soi, peut encore être amé lioré de la façon suivante : normalement le générateur haute fréquence est alimenté par un courant haute tension filtré par

self et capacité après redressement. Si l on supprime le dispositif de filtrage. le courant haute tension reste continu mais subit une modulation de 100 périodes/secondes la tension alternative avant redressement étant de 50 p/s. Cette modulation se retrouve évidemment sur le courant haute fréquence du circuit oscillant et par conséquent sur la fréquence ultra sonore. Si nous appliquons ce procédé au générateur qui émet les ultra sons dans la cuve d observation décrite nous constatons en particulier aux fréquences de 1000 et 3000 Kc l absence totale de groupements de particules traduisant la présence de systèmes d ondes stationnaires. À la fréquence de 350 Kc de tels systèmes se manifestent encore mais de façon très effacée. Cette méthode de suppression d ondes stationnaires a été indiquée par J. LOZA dans un travail publié en 1950.

Pour évaluer l intensité ultra sonore aux différentes fréquences nous avons adopté comme méthode la mesure de la pression de radiation DOGNON (1953) décrit un procédé qui donne satisfaction une petite capsule de forme conique est reliée par une petite tige à l équipement mobile d un galvanomètre. Cette capsule est plongée dans la cuve d eau soumise à la vibration et ses déplacements sont indiqués par le déplacement de l aiguille du galvanomètre. Une tension électrique appliquée au galvanomètre par l intermédiaire d un rhéostat compense le déplacement de l aiguille son intensité sert de point de repère.

Afin de pouvoir utiliser cet appareil dans le montage précédemment décrit nous l avons modifié de la façon suivante la capsule conique est fixée à angle droit à la base de la tige verticale reliée à l équipement mobile du galvanomètre ainsi disposé le cone se déplace à peu près parallèlement au faisceau d ultra sons, Nous avons constaté que pour des intensités relativement faibles il suffit de considérer l angle de déviation de l'aiguille du galvanomètre comme indication. Afin d'éviter les perturbations dues aux bulles de cavitation, l'eau est au préalable dégazée. Pour une intensité choisie nous notons la déviation de ce pendule et la valeur de l'intensité anodique du générateur haute fréquence. Pour les autres fréquences nous cherchons à obtenir la même déviation du pendule et nous relevons l'intensité anodique correspondante. Ces valeurs électriques nous servirons de repère d'intensité au cours de nos expériences.

Un autre type de montage nous permet d étudier, avec les mêmes possibilités d'observation, le comportement de cellules ou tissus traités en régime d'ondes stationnaires bien définies et stables.

La cuve d'observation est réalisée de la façon suivante un anneau en aluminium de 12 cm de diamètre, 2 cm de haut, dont la paroi a une épaisseur de 15 mm, est collé sur une plaque de verre. Cette plaque est percée au niveau du demi rayon de la cuve ainsi formée d un trou de 10 mm de diamètre. Cet orifice est fermé du coté intérieur de la cuve par une lamelle couvre-objet collée. C'est à ce niveau que nous disposerons les échantillons à traiter. Pour l observation microscopique nous disposons au dessus de l'objet à une distance d environ 3 cm une source lumineuse avec condenseur et diaphragme. L'objectif est placé en face sous la cuve, et l image est dirigée par un prisme vers l oculaire disposé horizontalement. Ce montage (Fig. 2) permet aux faibles grossissements une observation satisfaisante. Le générateur haute fréquence est alimenté par une haute tension redressée et filtrée par self et capacités; nous utilisons le générateur Siemens 350 Kc. La transmission des ultra-sons du quartz à la cuve d observation est réalisée par l'intermédiaire d'une tige en verre, de 8 mm de diamètre, convenablement recourbée, une extrémité est plongée dans le bain d'huile du quartz, l'autre aboutit verticalement au centre de la cuve de traitement. La cuve est remplie d'eau et nous ajoutons une petite quantité de poudre d'alumine. Dès la mise en marche du générateur, ces particules se disposent sur le fond de la cuve en cercles concentriques, espacés de 2,1 mm, autour de l'extrémité immergée de la tige de transmission. Cette disposition marque l'établissement d'un système d'ondes stationnaires. Il est facile de tracer à l'encre de Chine des traits de repère, qui serviront ultérieurement pour les expériences à déterminer l'emplacement des noeuds et ventres de vibration. La méthode de transmission utilisée a l inconvénient de réduire dans de fortes proportions l'énergie ultra-sonore. Etant donné la forte intensité disponible au départ (environ 300 W), l'énergie recueillie dans la cuve est largement suffisante pour provoquer la cavitation de l'eau.

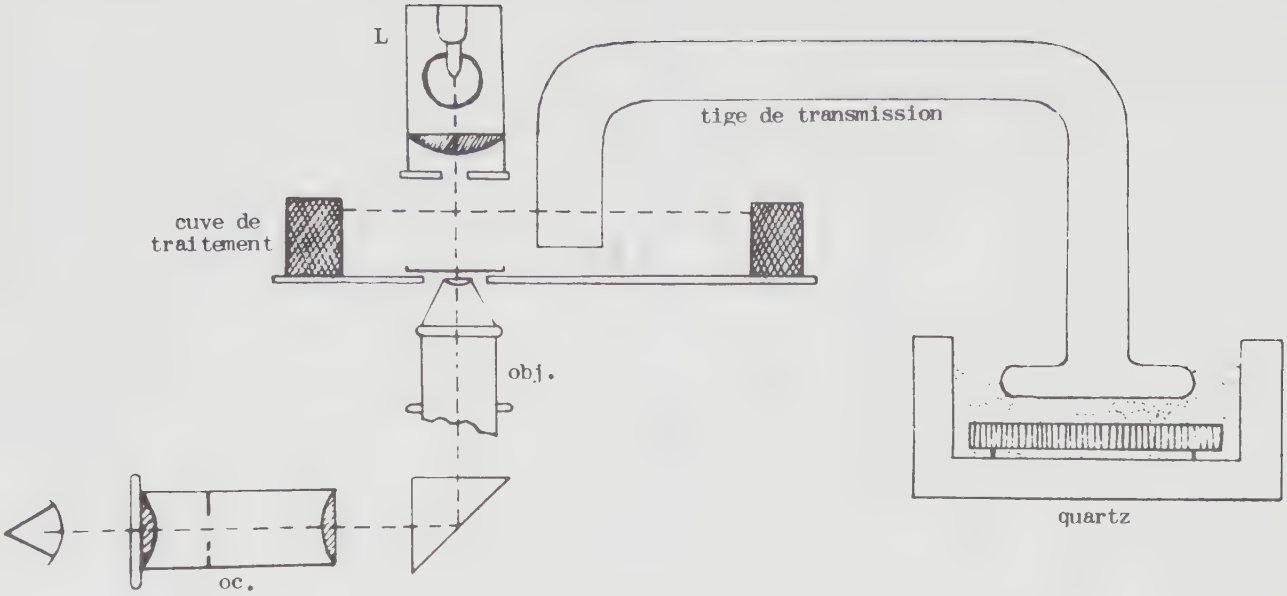

Fig. 2 - Montage pour l'observation en ondes stationnaires.

ANALYSE DES RESULTATS EXPERIMENTAUX

Les expériences que nous décrivons par la suite sont de deux types descriptions d aspects morphologiques des cellules végétales servant aux expériences et mesures de paramètres physiques ou chimiques de réactions physiologiques. Dans le premier cas les critères sont l observation et l image dans le deuxième cas nous avons à comparer la différence entre les moyennes de deux séries d expériences témoins et traités et à déterminer si ces valeurs sont significativement distinctes ou non. Etant donné le nombre faible des effectifs disponibles nous appliquons le test de **STUDENT FISHER**. Nous calculons l erreur standard de la différence des moyennes en utilisant la formule

$$\sigma_d = \sqrt{\frac{(S(x_1 - \dot{x}_1)^2 + S(x_2 - \dot{x}_2)^2)\left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}\right)}{N_1 + N_2 - 2}}$$

et nous obtenons ensuite la valeur de t

$$t = \frac{\dot{x}_1 - \dot{x}_2}{\sigma_d}$$

Nous comparons les valeurs de "t" ainsi calculées aux chiffres indiqués dans la table de **STUDENT**, correspondant à un seuil de probabilité de P = 0,05.

*

* *

CHAPITRE I

LES DIVERS TESTS UTILISES

OBSERVATION AU MICROSCOPE DES PERTURBATIONS CELLULAIRES.

INHIBITION DE LA CYCLOSE DANS LES CELLULES FOLIAIRES D *ELODEA*

ACTION DES ULTRA SONS SUR LA REDUCTION DU NITRATE D'ARGENT

ACTION DES ULTRA SONS SUR L AMYLO SYNTHESE *IN VITRO*

- - - - - -

1.- OBSERVATION AU MICROSCOPE DES PERTURBATIONS CELLULAIRES

Dans cette première partie nous décrivons le comportement de divers types cellulaires durant leur traitement aux ultra-sons sans tenir compte des caractères de la vibration fréquence, intensité, cavitation, effets thermiques. Le rôle de ces divers facteurs sera analysé ultérieurement.

Parmi les divers types de cellules dont nous avons étudié le comportement nous avons retenu ceux dont les diverses formes d'altérations sont particulièrement significatives en ce qu elles nous permettent, par la suite une analyse du mode d'action des ultra-sons. Nous avons choisi les cellules des filaments de *Spirogyra* des feuilles de *Mnium*, des feuilles d'*Elodea* D autres types cellulaires tel que *Allium*, *Symphoricarpus* *Tradescantia* *Vaucheria* présentent des formes d'altérations comparables aux trois espèces choisies mais ces dernières donnent l avantage de l'observation facile durant le traitement, de la régularité des phénomènes observés et par conséquent de la reproductibilité aisée.

Comportement des cellules de *Spirogyra*.

Les observations qui suivent sont faites sur des formes de *Spirogyra* dont les origines et caractères sont les suivants

1) Lieu de récolte : Etang de Hanau (région de Niederbronn).
   Largeur des cellules : 60 à 65 μ
   1 chloroplaste spiralé
   Noyau lenticulaire à position centrale,
   Cloisons transversales sans plis.

2) Lieu de récolte Etang de la Nideck (Vosges moyennes gréseuses, au nord de la vallée de la Bruche).
   Largeur des cellules : 90 à 115 μ;
   2 à 5 chloroplastes spiralés;
   Noyau lenticulaire à position centrale;
   Cloisons transversales sans plis.

Dans les deux cas l'action de la vibration se manifeste de la même façon

Dès le début de l'irradiation on est frappé par la formation de mouvements tourbillonnaires qui prennent naissance dans le contenu cellulaire. Une observation attentive permet de discer-

ner plusieurs types de tels mouvements nettement distincts que nous avons classés selon leurs caractères propres en trois catégories

a) *Les tourbillons intenses.*

Dans certaines cellules apparaissent spontanément des tourbillons très rapides affectant tout le contenu de la cellule. La durée de ces perturbations est variable d une fraction de seconde à environ une minute. Durant ce temps d action on assiste à des degrés d altération variés débutant par la dislocation du chloroplaste spiralé en plusieurs parties suivie de sa fragmentation de plus en plus importante aboutissant à une émulsion fine de tout le contenu cellulaire (Fig. 3). L ultime stade de dégradation atteint se traduit par la déchirure de la membrane la cellule est alors vidée de son contenu qui se disperse dans le milieu ambiant. Ce type de tourbillon ne se manifeste en général que dans une seule et rarement dans deux cellules voisines

b) *Les tourbillons moyens*

D autres cellules rares présentent un tourbillon tangent à la cloison transversale séparant deux cellules voisines L amplitude de ce mouvement atteint au plus le quart de la longueur de la cellule Il est rendu visible par le déplacement des diverses inclusions cytoplasmiques et par la participation au mouvement de petites fractions du chloroplaste détachées de l extrémité de la spirale (Fig 4) La durée de ces tourbillons est du meme ordre que celle des tourbillons intenses leur vitesse de rotation est moins rapide elle est de l ordre de quelques tours par seconde Ces mouvements sont souvent décelables simultanément dans plusieurs cellules ils sont toujours liés à la présence d un tourbillon intense déclenché dans une cellule plus ou moins éloignée du meme filament Quelle que soit la durée de ces tourbillons le stade émulsion n est jamais atteint.

c) *Les tourbillons faibles*

Ce type de tourbillon se manifeste dans presque toutes les cellules d un meme filament Les mouvements se produisent toujours et uniquement de part et d autre des cloisons transversales. Leur amplitude est très faible seules les inclusions cytoplasmiques y participent. Ces tourbillons sont stables

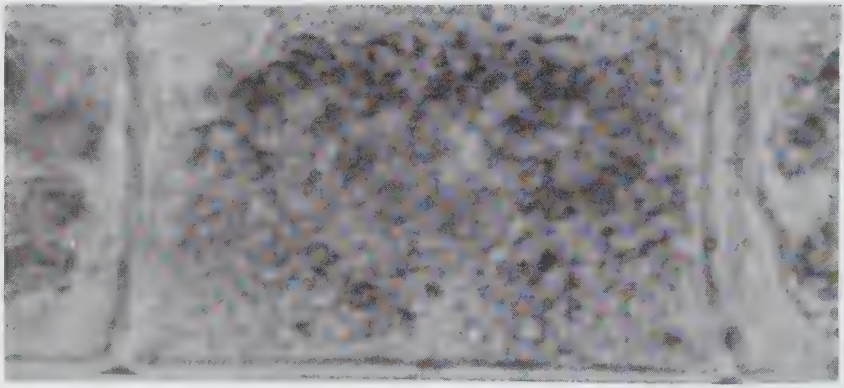

Fig. 3 - *Spirogyra,* stade émulsion du contenu cellulaire.

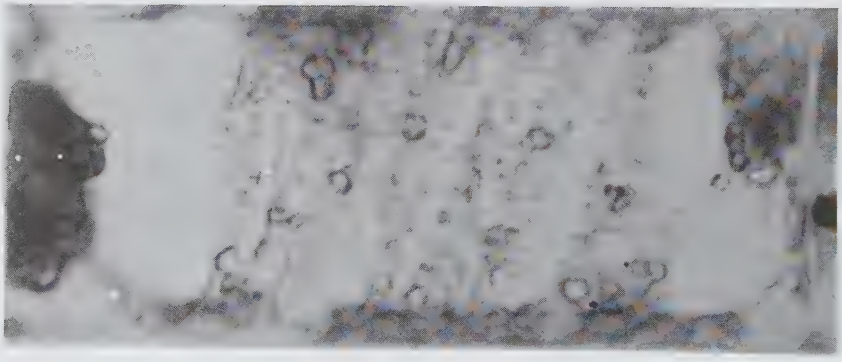

Fig. 4 - *Spirogyra,* tourbillons moyens, notamment de part et d'autre de la cloison de droite.

leur vitesse est du même ordre que celle des tourbillons moyens, leur durée est liée à la durée d'irradiation. Ces mouvements sont indépendants de tout autre tourbillon formé dans les autres cellules du même filament.

d) Dans les cellules épargnées par les perturbations violentes, en particulier par les tourbillons intenses, les effets des ultra-sons sont rendus visibles par le comportement du chloroplaste et du noyau.

Les spires du chloroplaste subissent, après quelques minutes d'irradiation une contraction qui rappelle un effet de centrifugation (KÜSTER, 1937). Le chloroplaste peut se contracter soit latéralement vers l'une ou l'autre des cloisons transversales, soit vers le centre de la cellule autour du noyau (Fig. 5).

Dans d'autres cas il se produit un tassement du chloroplaste, sans contraction des spires, contre la paroi cellulaire longitudinale (Fig. 6). Ces mouvements, très lents, sont accompagnés

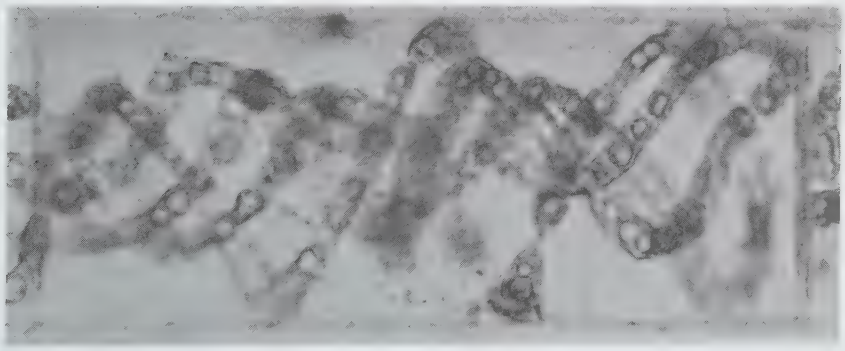

Fig. 5 - *Spirogyra,* début de contraction du chloroplaste autour du noyau.

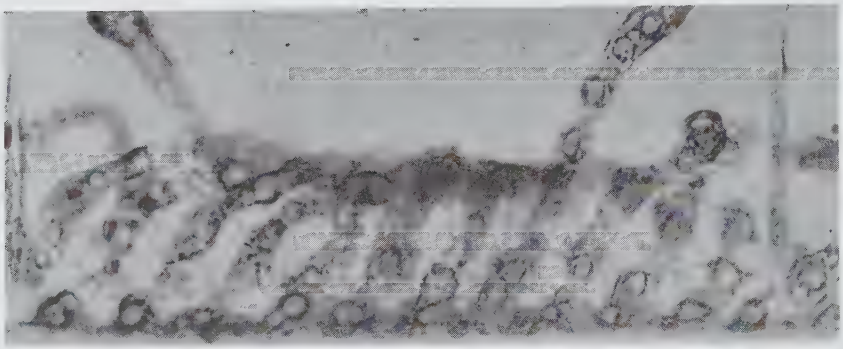

Fig. 6 - *Spirogyra,* contraction latérale du chloroplaste.

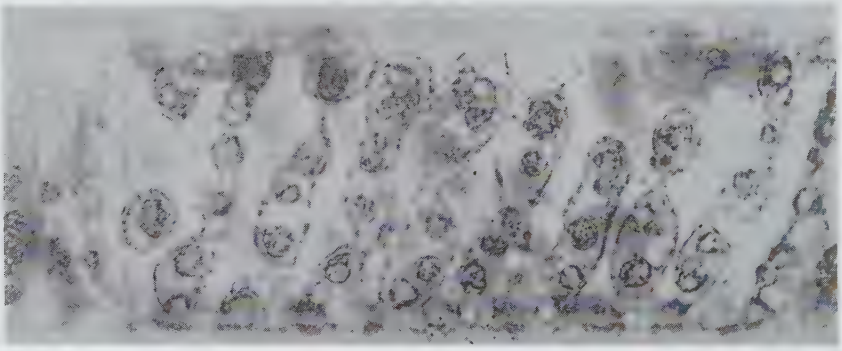

Fig. 7 - *Spirogyra,* renflement et dislocation du chloroplaste.

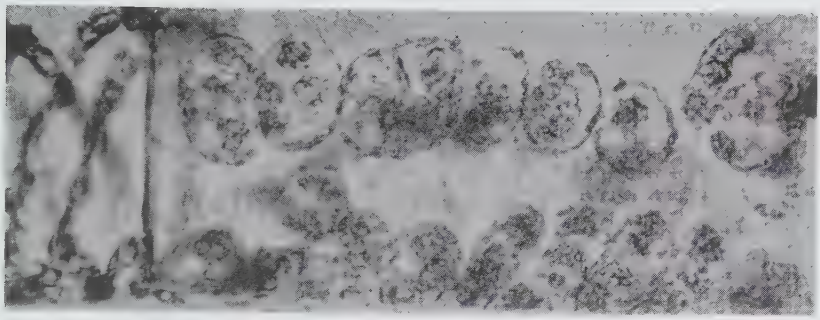

Fig. 8 - *Spirogyra*, dégradation du chloroplaste en fragments sphériques.

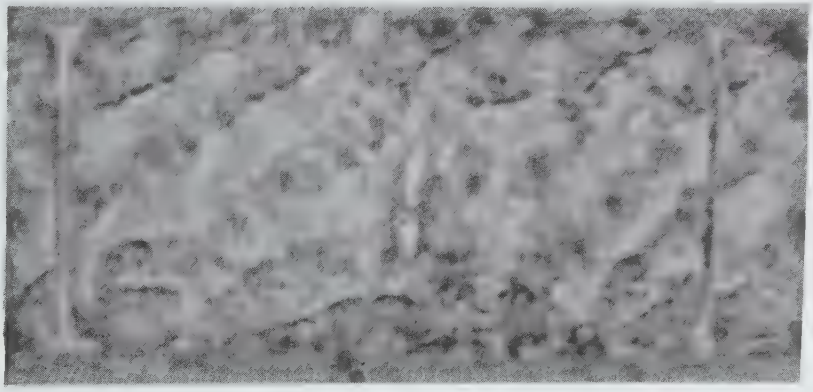

Fig. 9 - *Spirogyra*, cellule au début de l'irradiation (noyau lenticulaire).

par une augmentation de volume du ruban formé par le chloroplaste et des grains d'amidon qu'il renferme; le dessin plus ou moins crénelé du plaste s'estompe et devient rectiligne. Une fragmentation du chloroplaste s'amorce (Fig. 7) : lentement il se désagrège en parties plus ou moins nombreuses, de l'ordre de cinq à vingt, chaque partie continue à grossir et l'on observe finalement des fragments de plaste de forme sphérique s'ils sont petits, de forme ovale lorsqu'ils sont plus grands (Fig. 8). Le noyau suit les déplacements du chloroplaste et subit également un gonflement important. Celui-ci se produit avant celui du plaste. De forme élliptique au départ (Fig. 9) le noyau acquiert après quelques minutes d'irradiation une forme sphérique, on observe l'apparition très contrastée du nucléole (Fig. 10).

A la suite de ces divers stades d'altérations tout le contenu cellulaire est coagulé.

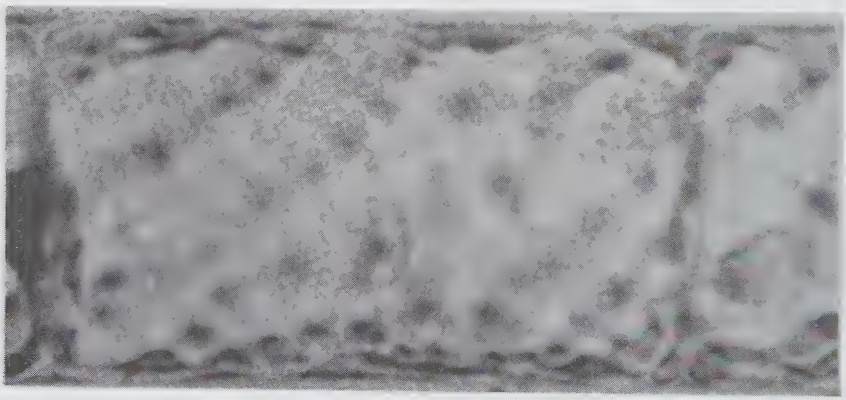

Fig. 10 - *Spirogyra*, après traitement (renflement du noyau).

Comportement des cellules de *Mnium*.

Dans les cellules d'une feuille de *Mnium* affine (BLAND) soumise à la vibration les perturbations directement visibles se limitent à des mouvements tourbillonnaires. Nous retrouvons le type de tourbillon dit intense caractérisé par son instabilité. Il se manifeste comme précédemment décrit brassage violent émulsion, déchirures de membranes. Le plus souvent plusieurs cellules de trois à six sont affectées simultanément. En plus on observe une variante des tourbillons intenses un groupe de plusieurs cellules rapidement émulsionnées, reste soumis durant tout le temps de traitement au brassage violent. Des déchirures de membranes ne se produisent que rarement. L'arrêt de l irradiation suivi de sa reprise entraîne l arrêt et la reprise de ces tourbillons ils sont donc contrairement aux autres tourbillons intenses observés absolument stables. Dans les cellules de feuilles de *Mnium* nous constatons l absence de tourbillons moyens et faibles.

Comportement des cellules de feuilles d'*Elodea*

La feuille d'*Elodea canadensis* (Rich.) soumise aux ultrasons révèle des mouvements tourbillonnaires dans presque toutes ses cellules. Nous distinguons deux catégories de mouvements : les tourbillons intenses et instables avec la variante intense et stable d'une part les tourbillons faibles d'autre part. Les tourbillons intenses et stables ainsi que les tourbillons faibles se produisent simultanément dans de nombreuses cellules, souvent une vingtaine, alignées en rangées. Une localisation est fréquemment constatée tourbillons intenses et stables dans la région de la nervure, tourbillons faibles dans les régions latérales du limbe. Par contre les tourbillons intenses et instables se produisent apparemment au hasard dans n'importe quelle région de la feuille.

2.- INHIBITION DE LA CYCLOSE DANS LES CELLULES DE FEUILLES D'*ELODEA*

Comme nous l'avons annoncé, ce chapitre est réservé à la description des divers tests utilisés, le rôle des facteurs physiques liés aux ultra-sons sera étudié par la suite. Nous sommes cependant obligés, pour éviter des contradictions avec les descriptions précédentes, d'apporter dès maintenant une précision.

Dans les feuilles d'*Elodea* traitées aux ultra-sons dans les conditions que nous venons d'utiliser durant des temps de l'ordre d'une heure, à peu près toutes les cellules seraient détruites et par conséquent des mesures d'inhibition de cyclose rendues impossibles. Les inhibitions de cyclose sont observées à la suite de traitements ultra sonores de très faible intensité afin d'éviter avec certitude tout effet de cavitation (L. ROSSBERG (1959) et J. LEHMANN (1949) indiquent comme seuil de cavitation pour 1000 Kc une intensité de 0,8 W/cm2).

En observant les cellules d'une feuille d'*Elodea* traitée dans ces conditions on retrouve parmi les perturbations précédemment décrites, des tourbillons faibles et des tourbillons intenses. Ces mouvements sont absolument stables des altérations plus importantes, émulsion ou déchirures, ne se produisent pas. En observant, après plusieurs minutes de traitement la cyclose dans différentes cellules d'une feuille on constate qu'elle se produit très irrégulièrement dans certaines cellules elle a lieu dans d'autres les chloroplastes restent immobiles. Dans une feuille témoin non traitée observée dans les mêmes conditions la cyclose se manifeste dans toutes les cellules de la partie du limbe examinée (PFIRSCH, 1956).

Si l'on observe dans une feuille traitée une cellule ayant subi un tourbillon intense et manifesté ensuite l'absence de cyclose, on constate qu'après un temps d'attente celle-ci reprend normalement, il s'agit donc d'une inhibition temporaire.

Par les expériences qui suivent nous cherchons à mettre en évidence une relation entre les temps d'irradiation et les durées d'inhibition de la cyclose. Nous avons choisi des feuilles de dimensions comparables, prélevées à un même niveau, sur différents rameaux, en moyenne à une dizaine de cm du bourgeon terminal. Les cellules observées au microscope sont, pour toutes les expériences, celles situées dans la région centrale entre la nervure et le bord de la feuille. Nous considérons la cyclose établie dès qu'un ou plusieurs plastes exécutent un déplacement continu. Avant les expériences les feuilles prévues sont disposées dans un cristallisoir exposé à une source de lumière uniforme. Durant les temps de traitement et d'observation un éclairage comparable est maintenu.

L'observation des mouvements tourbillonnaires a montré que durant l'irradiation toutes les cellules ne sont pas touchées de la même manière. Nous distinguons trois cas : les cellules soumises à des tourbillons intenses et stables, les cellules pré-

sentant des tourbillons faibles les cellules sans tourbillons. Les expériences sont faites à la fréquence de 350 Kc.

Nous avons présenté les résultats obtenus en fonction des variables : temps d'irradiation, âge de la culture, type de tourbillon sous forme de deux abaques, l une concernant les cellules à tourbillons intenses (voir diagramme 1), l'autre les cellules à tourbillons faibles (voir diagramme 2). Dans les cellules, qui durant l'irradiation ne présentent aucun tourbillon, nous n'observons pas de perturbation de la cyclose.

Les résultats de ces expériences montrent que les feuilles de plantes fraîchement récoltées dans leur milieu naturel ne se comportent pas comme celles prélevées dans nos bacs de culture installés au laboratoire Ces plantes sont cultivées dans un grand bac en verre dont le fond est recouvert d'une épaisseur de sable de quelques centimètres. L eau est renouvelée de façon continue par la conduite d'eau, le bac est disposé en face d'une fenetre. Durant une période de deux mois les plantes ainsi cultivées présentent un aspect normal. Au microscope les cellules des feuilles ne présentent pas d anomalies apparentes, la cyclose ne diffère en rien de celle des cellules de plantes fraîchement récoltées.

De l'ensemble des résultats obtenus nous concluons

1) les cellules à tourbillons intenses subissent pour un même temps d irradiation une inhibition de cyclose plus forte que les cellules à tourbillons faibles. Nous avons reproduit sur un diagramme (3) les courbes 4 et 6 semaines des diagrammes 1 et 2 afin de faciliter la comparaison des résultats permettant cette affirmation. La même conclusion s'applique aux courbes tracées pour les autres degrés de vieillissement des plantes. Chaque point figurant sur ces diagrammes représente la valeur moyenne de dix expériences. Pour chacun de ces points nous avons indiqué les valeurs extremes des écarts à la moyenne.

Il est clair que les résultats obtenus avec tourbillons faibles sont absolument distincts des résultats obtenus avec tourbillons intenses.

2) dans tous les cas la durée d'inhibition augmente avec le temps de traitement, à l'exception des plantes fraîches.

3) la durée d'inhibition est d autant plus forte tant dans les cellules à tourbillons intenses que dans celles à tourbillons faibles, que la culture est plus vieille.

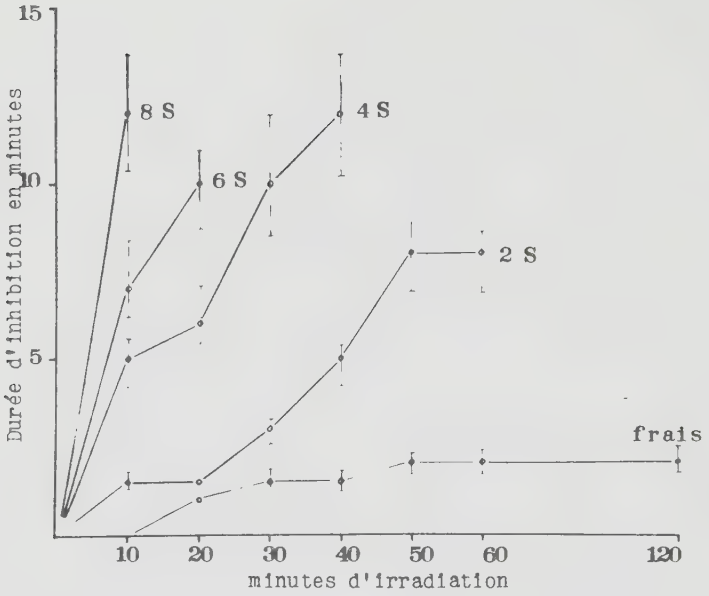

Diagramme 1 – Inhibition de la cyclose dans les cellules d'*Elodea*. 350 Kc, tourbillons intenses. S.- Durée, en semaines, de la culture des plantes.

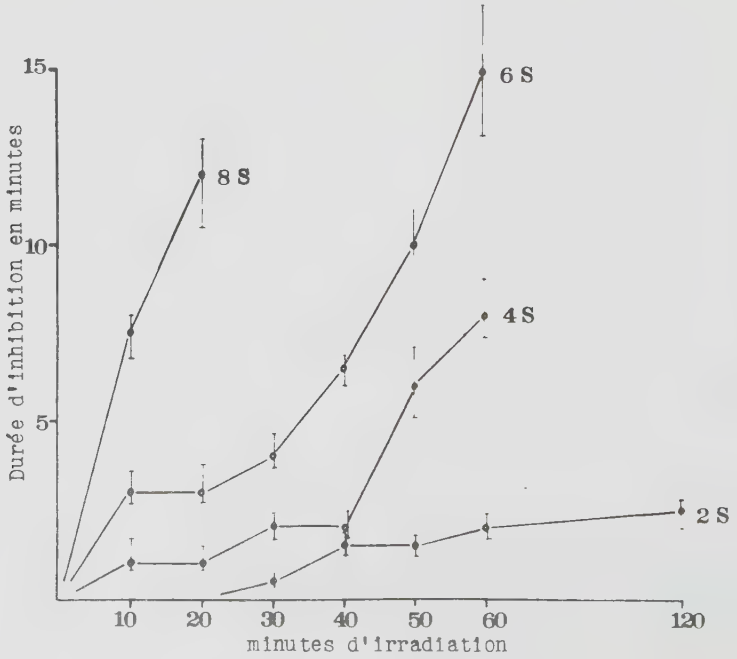

Diagramme 2 – Inhibition de la cyclose dans les cellules d'*Elodea*. 350 Kc, tourbillons faibles.

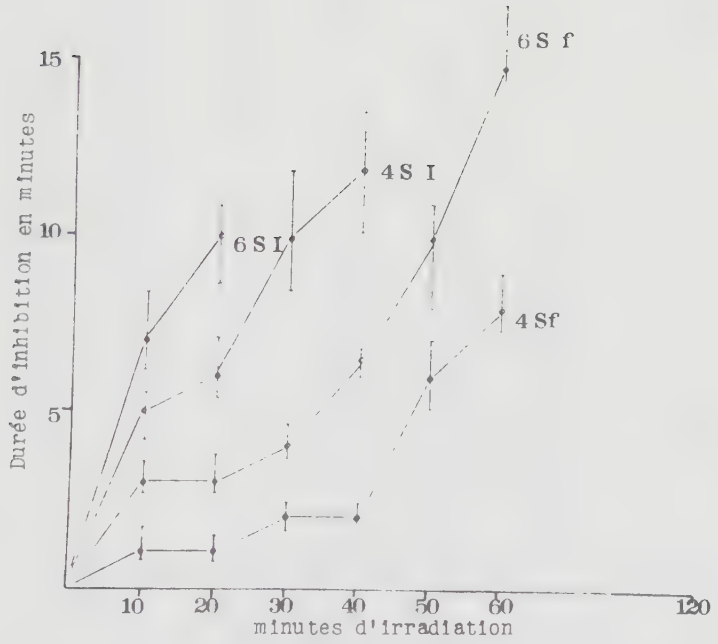

Diagramme 3 - Inhibition de la cyclose dans les cellules d'Elodea.
350 Kc. S - Durée, en semaines, de la culture des plantes.
I - Tourbillons intenses,
f - Tourbillons faibles.

Inhibition de la cyclose dans les cellules foliaires d'*Elodea*

Fréquence U.S. : 350 Kc, durée d'inhibition exprimée en minutes.

1) *Cellules à tourbillons intenses*

Durée de la culture des plantes	Temps de traitement aux U.S. en minutes						
	10	20	30	40	50	60	120
Plantes fraîches		0,9	1,5	1,2	1,9	1,8	2,0
		1,0	1,3	1,5	2,0	1,7	2,2
		0,8	1,7	1,5	2,0	2,1	1,9
		0,7	1,1	1,3	1,8	2,3	2,0
		1,1	1,9	1,2	2,3	2,0	1,8
		1,3	1,5	1,5	1,9	2,4	2,2
		1,1	1,6	1,8	2,0	2,0	2,0
		0,8	1,4	1,4	2,2	2,1	2,4
		1,1	1,5	1,6	2,0	2,2	1,9
		1,2	1,2	1,4	1,7	2,0	1,8
moyennes		1,0	1,4	1,4	1,9	2,0	2,0
2 semaines	1,5	1,5	3,1	4,8	8,4	8,1	
	1,4	1,9	2,9	5,0	8,2	7,4	
	1,8	1,6	2,6	5,4	6,9	7,8	
	1,3	1,3	3,5	5,0	8,2	7,7	
	1,6	1,5	2,9	5,2	8,7	8,6	
	1,3	1,1	2,6	4,4	6,9	8,0	∞
	1,7	1,0	3,3	5,0	7,0	8,1	
	1,5	1,8	3,0	4,2	8,2	8,0	
	1,3	1,4	2,7	4,4	8,9	6,9	
	1,3	1,5	2,9	5,1	8,1	7,2	
moyennes	1,4	1,4	2,9	4,8	7,9	7,7	
4 semaines	4,2	6,2	10,5	11 0			
	4,7	7,1	12,0	10,2			
	5,1	6,9	10,2	12,0			
	5,0	5,5	9,1	12,4			
	5,4	5,1	10,0	13,7	∞	∞	
	5,2	6,0	8,5	10,8			
	4,9	5,4	9,0	12,4			
	4,4	6,1	10,4	11,0			
	5,6	5,3	11,8	10,9			
	5,0	5,2	9,5	13,2			
moyennes	4,9	5,8	10,1	11,7			

Durée de la culture des plantes	Temps de traitement aux U.S. en minutes						
	10	20	30	40	50	60	120
6 semaines	6,9 6,9 7,6 7,9 8,4 6,5 6,8 6,7 6,2 7,3	9,3 10,4 10,6 8,5 9,8 10,1 10,0 13,0 10,2 8,5	∞	∞	∞	∞	∞
moyennes	7,1	10,0					
8 semaines	10,4 12,0 13,7 12,2 10,9 11,5 10,7 12,9 12,0 12,4	∞	∞	∞	∞	∞	∞
moyennes	11,8						
2) *Cellules à tourbillons faibles* :							
2 semaines			0,6 0,4 0,4 0,6 0,6 0,7 0,5 0,6 0,5 0,5	1,6 1,5 1,5 1,5 1,9 1,4 1,3 1,4 1,2 1,5	1,4 1,5 1,5 1,3 1,7 1,5 1,2 1,6 1,5 1,2	2,0 2,2 2,0 1,9 2,0 2,4 2,0 1,7 1,9 1,9	2,2 2,4 2,5 2,1 2,5 2,3 3,2 2,2 2,7 2,0
moyennes			0,54	1,4	1,4	2,0	2,4
4 semaines	1,2 1,0 1,2 1,0 1,0 0,9 0,9 1,0 1,7 1,4	0,9 0,8 0,5 1,0 0,9 1,4 1,0 1,2 1,0 1,1	2,1 2,0 2,2 2,0 1,8 2,0 1,9 1,7 2,3 2,1	2,2 2,1 1,6 1,8 2,7 2,4 1,5 1,9 2,3 2,0	5,4 5,1 5,9 6,0 6,0 5,7 7,1 6,8 6,0 6,2	8,2 8,0 8,4 7,5 9,1 8,1 7,6 7,4 7,5 8,0	∞
moyennes	1,1	9,8	2,0	2,0	6,0	7,1	

Durée de la culture des plantes	Temps de traitement aux U.S. en minutes						
	10	20	30	40	50	60	120
6 semaines	3,0	2,9	3,8	6,2	10,2	13,8	
	2,7	2,9	4,0	6,5	10,0	15,0	
	2,9	3,1	4,1	6,8	8,8	14,6	
	3,0	3,0	3,9	6,0	11,0	16,1	
	3,2	4,0	4,4	6,1	10,0	17,2	∝
	3,6	2,7	3,9	6,5	9,5	13,8	
	3,0	3,8	3,9	6,8	8,7	14,8	
	3,1	3,0	4,4	6,4	10,5	16,3	
	2,9	2,9	4,6	6,7	11,0	13,2	
	3,3	2,8	4,0	6,5	8,0	13,6	
	3,0	3,0	4,1	6,4	9,7	14,8	
8 semaines	8,0	11,5					
	7,9	11,8					
	8,0	10,5					
	6,9	14,0					
	7,1	12,4	∝	∝	∝	∝	∝
	8,1	13,0					
	7,2	12,0					
	6,8	10,6					
	7,0	11,2					
	7,4	11,5					
	7,4	11,8					

3.- INHIBITION DE LA REDUCTION DU NITRATE D'ARGENT

Dès 1881, LOEW et BOKORNY signalent qu'une cellule vivante, immergée dans une solution de nitrate d'argent diluée, présente après un certain temps des granulations noires. Cette coloration est la conséquence d'un processus de réduction. Par la suite ces observations furent l'objet de nombreuses discussions portant sur la nature de l'agent réducteur, la localisation de la réduction dans la cellule, le rapport de cette réaction avec la vitalité de la cellule.

MOLISCH, en 1918, démontre par ses recherches que cette réaction est liée à la vie de la cellule et que la réduction se produit au niveau des chloroplastes. Par la suite les chercheurs, qui se sont intéressés à ce phénomène, le désignèrent souvent par "réaction de Molisch". Ce terme ne convient pas toujours, la réduction peut également se produire au niveau du cytoplasme et des vacuoles, les chloroplastes n'intervenant pas. NAGAI (1950)

montre que cette localisation dépend du degré d'acidité ou d alcalinité du réactif au nitrate d argent la réaction de Molisch est positive pour un pH de l'ordre de 4 à 5, le nitrate est réduit au niveau du cytoplasme si le pH est de 8 à 9. GIROUD et ses collaborateurs (1936 1938) utilisent pour la réaction une solution de nitrate d argent acide (pH 4) et montrent que dans un tel milieu seul l acide ascorbique est capable d'effectuer la réduction. La localisation du phénomène au niveau des chloroplastes est en rapport avec leur haute teneur en acide ascorbique. NAGAI et OGATA (1952) confirment l importance de l acide ascorbique par l étude du comportement d algues marines. MIRIMANOFF (1938) ERTL (1939) émettent l hypothèse d une action par l intermédiaire du glucose. DISCHENDORFER (1937) WEIER (1938) GAUTHERET (1935) précisent que la réduction ne se produit qu en présence de lumière GAUTHERET émet l hypothèse d un phénomène de photosensibilisation par la chlorophylle les substances réductrices n'agissant qu après cette activation Dans ces conditions des substances telles que les tannins ou les oxyflavones sont également capables de réduire le nitrate d'argent. Cet auteur montre que la réaction n'est pas liée à la photosynthèse. Si la réaction est due à l'acide ascorbique, et si elle est liée à l'état de vie des plastes, il est vraisemblable que la mort de la cellule entraîne une dégradation rapide oxydation de cet acide. WEIER (1938) montre que la réaction persiste lorsqu'il tue une cellule en évitant toute oxydation. MIRIMANOFF, par des expériences analogues, ne confirme pas ces résultats, la réaction de Molisch ne se produit plus lorsque la cellule est morte, c'est une réduction diffuse au lieu d'une réduction localisée qui a lieu. Pour cet auteur le processus de réduction est également lié à des propriétés de surface par l'étude des cellules de *Mnium* et de *Lithops* il montre qu'il y a un rapport entre le degré de réduction et la structure grana-stroma des plastes.

Malgré l absence d'une interprétation certaine du processus de la réaction de Molisch, cette réaction a été utilisée avec succès comme méthode d'investigation tant dans le domaine de la morphologie que dans des recherches physiologiques.

Un certain nombre d'expériences préliminaires nous a laissé entrevoir que ce test se prête fort bien à nos investigations sur le mode d'action des ultra-sons ; d'une part la réaction se révèle très sensible à l'action de ce rayonnement, d'autre part un montage approprié nous permet d'apprécier avec

une bonne précision le degré du pouvoir réducteur des cellules végétales.

Matériel et méthode.

Nous avons choisi comme matériel des feuilles d'*Elodea* et des feuilles de *Mnium* Les cellules de ces deux types de feuil les réalisent la réduction du nitrate d argent avec beaucoup de régularité si l'on tient compte de l état physiologique des plantes au moment de l'expérience Il importe de se servir de plantes fraîchement récoltées provenant d un même endroit Se lon l'origine et l'époque de la récolte on obtient des réduc- tions plus ou moins régulières et uniformes dans les cellules d une feuille. Pour *Elodea* nous prélevons les feuilles sur la partie médiane d un rameau d une vingtaine de centimètres en partant du bourgeon terminal Pour *Mnium* meme opération sur des rameaux d environ cinq centimètres. Sur la feuille la mesu re est effectuée dans la région centrale située entre la ner- vure et le bord.

La mesure du pouvoir réducteur s'effectue à l'aide du mi- croscope Une feuille est montée entre lame et lamelle dans une solution à 10 % de nitrate d'argent. Entre la platine du mi- croscope et la préparation nous insérons un diaphragme dont le rayon d ouverture est de 1 mm L'ensemble préparation et dia phragme. est observé à l aide d un objectif dont le grossisse ment est choisi de façon telle que son champ couvre assez exac tement l ouverture du diaphragme Nous plaçons la lame de telle façon que la partie centrale de la demi feuille se trouve dans le champ d observation Après la mise au point du microscope l'oculaire est remplacé par une cellule photo électrique reliée à un galvanomètre Cet ensemble fonctionne alors comme un colo rimètre les valeurs indiquées par le galvanomètre traduisent en fonction du temps l'évolution du processus de réduction. L échelle de lecture est graduée de 0 à 50. Dans toutes les ex périences qui suivent nous ajustons le colorimètre sur la va leur 0 immédiatement après avoir disposé la feuille destinée aux mesures sur le microscope (coloration verte de la feuille). Les valeurs maxima indiquées en fin d'expériences par l'ap pareil de mesure se situent au voisinage de 30.0 et corres- pondent à une couleur brun foncé (voir témoins après une durée de réduction de 60 minutes).

La difficulté de mise au point de ce montage réside dans le réglage de la lumière il importe d'opérer avec un éclairage modéré ce qui implique un ensemble de mesure cellule-galvano

mètre de grande sensibilité. Il va de soi que la source de lumière doit etre aussi stable que possible. L'utilisation du secteur est impossible en raison des fluctuations de tension l'éclairage alimenté par accumulateur donne satisfaction.

Pour cette méthode de mesure il est plus avantageux de considérer la réduction du nitrate d argent au niveau du cytoplasme. Dans ce cas on obtient des colorations assez uniformes sur la plage de cellules observées. S il s'agit de la réduction au niveau des chloroplastes réaction de Molisch proprement dite il est plus difficile d obtenir des mesures précises par notre procédé nous avons vu que durant l'irradiation de nombreuses cellules sont soumises à des mouvements tourbillonnaires qui ont pour conséquence le groupement des plastes en paquets. Même si ces amas se dispersent après l irradiation la mesure colorimétrique s en trouve perturbée.

Action des ultra sons de 1000 Kc sur le pouvoir réducteur des cellules de feuilles d'*Elodea* et de *Mnium*

Feuilles témoins : Un essai préliminaire consiste à examiner au colorimètre, en fonction du temps, le comportement de ces feuilles montées entre lame et lamelle dans de l'eau. Durant une heure les variations lues sont inférieures à l'unité, donc négligeables Nous reprenons l expérience en remplaçant l eau par la solution de nitrate d argent. Les valeurs obtenues, moyennes de six expériences ainsi que les valeurs extrêmes des écarts de la moyenne, portées sur les diagrammes 4 et 5, font apparaitre une évolution très régulière de la réduction en fonction du temps un palier est atteint vers la quarantième minute. Il est intéressant de noter que dans les deux cas *Elodea* et *Mnium* les courbes obtenues sont presque superposables Cette similitude n'est réalisée que si les deux feuilles sont soumises durant l'expérience au même éclairage.

Feuilles traitées : Les feuilles sont immergées dans la cuve de traitement soumises à l action de la vibration durant 5 minutes puis montées entre lame et lamelle dans la solution de nitrate d argent et disposées sur le microscope Sur un tableau nous avons réuni tous les résultats obtenus tant par l étude des témoins que par celle des feuilles traitées ceci pour *Elodea* et pour *Mnium* Ces valeurs figurées sur un diagramme mettent en évidence une très nette diminution du pouvoir réducteur, consécutive au traitement ultra-sonore. Les cellules de ces deux types de feuilles réagissent de la même façon comme

dans le cas témoin, les courbes des deux expériences sont presque superposables.

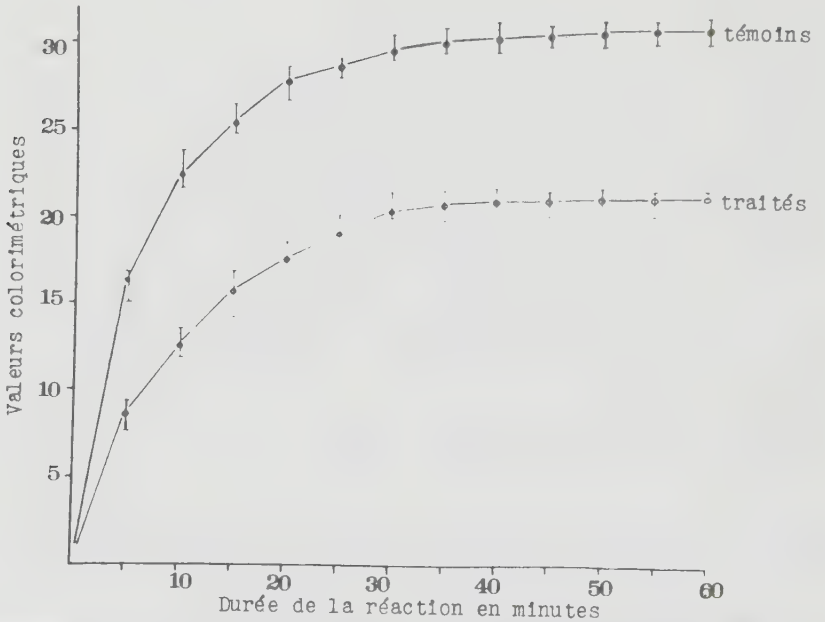

Diagramme 4 - Inhibition de la réduction du nitrate d'argent dans les cellules d'*Elodea*. 1000 Kc, présence de cavitation.

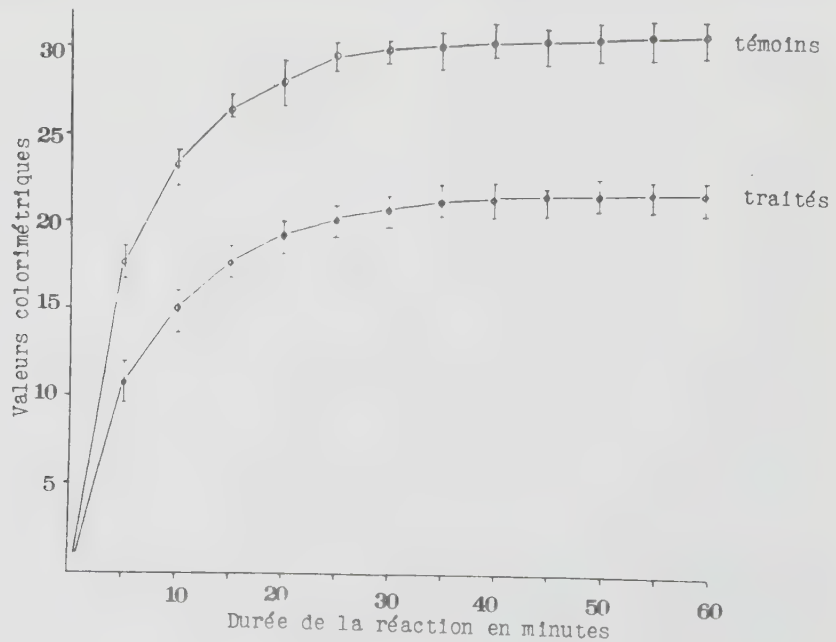

Diagramme 5 - Inhibition de la réduction du nitrate d'argent dans les cellules de *Mnium*. 1000 Kc, présence de cavitation.

Chiffres relevés au cours des expériences sur l'inhibition du pouvoir réducteur des cellules foliaires d'*Elodea* et de *Mnium*

Traitement de 5 minutes à 1000 Kc en présence de cavitation

1) Feuilles d'*Elodea*

	Durée de réaction en minutes											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
témoins	15,0	21,8	25,5	28,6	28,1	29,8	29,8	30,0	30,2	30,0	30,8	30,9
	17,0	21,7	26,4	28,2	29,2	29,4	31,0	31,0	31,6	31,5	31,2	30,2
	16,7	23,8	24,9	26,8	29,0	29,6	29,7	30,2	30,0	31,1	31,0	31,6
	16,7	22,5	25,2	28,0	29,0	29,6	30,0	30,6	30,5	30,0	30,7	30,5
	16,1	22,0	25,0	27,8	28,4	30,6	30,0	31,4	30,7	31,2	31,4	31,0
	16,8	23,1	26,0	28,0	29,2	29,2	30,6	29,6	31,0	31,2	30,2	31,2
moyennes	16,4	22,5	25,5	27,9	28,8	29,7	30,2	30,5	30,6	30,8	30,9	30,9
1000 Kc	8,8	13,6	16,4	16,4	19,4	19,9	21,4	21,4	20,1	21,5	20,2	21,5
	7,8	11,8	16,9	18,8	19,0	20,0	19,9	20,8	21,7	21,9	21,4	19,8
	9,0	11,9	14,1	16,4	18,3	20,8	20,0	21,9	20,6	20,8	21,8	21,2
	7,6	12,6	15,8	19,1	19,6	19,2	20,5	20,0	21,8	21,2	20,8	21,9
	8,5	12,8	14,4	18,7	20,1	21,0	21,8	21,8	21,6	21,8	21,1	21,6
	9,3	13,0	16,6	16,6	19,2	21,5	21,2	20,2	20,8	20,0	21,9	21,8
moyennes	8,6	12,6	15,7	17,6	19,1	20,4	20,8	21,0	21,1	21,2	21,2	21,3

2) Feuilles de *Mnium*

témoins	18,0	23,6	25,1	28,4	29,8	30,0	30,6	31,1	30,8	29,9	30,8	31,6
	17,2	22,0	26,5	27,1	30,9	30,4	30,0	29,6	29,7	31,2	31,6	31,7
	16,8	23,9	26,1	27,8	29,3	29,1	28,9	31,3	29,1	30,7	29,5	29,8
	18,5	23,4	27,2	29,2	30,4	29,8	31,0	30,5	31,2	31,4	29,9	29,6
	17,5	24,0	26,4	28,8	28,5	29,9	30,8	39,2	31,0	30,9	31,7	30,7
	17,6	22,3	27,1	26,7	28,6	30,2	29,9	30,7	31,2	29,5	31,3	31,4
moyennes	17,6	23,2	26,4	28,0	29,6	29,9	30,2	30,4	30,5	30,6	30,8	30,8
1000 Kc	10,4	14,2	16,9	20,0	20,1	19,9	21,0	20,5	21,8	22,0	21,8	21,7
	10,6	15,9	16,9	18,1	21,0	20,7	20,5	22,0	20,9	21,6	22,1	21,8
	11,5	13,8	17,8	20,4	19,2	21,4	22,3	22,0	21,1	21,0	20,6	22,2
	11,9	14,7	17,1	19,0	20,1	21,0	21,7	20,9	22,6	22,4	22,2	20,7
	10,0	16,0	18,7	18,6	19,4	19,7	20,9	21,2	22,4	20,8	21,7	22,1
	9,8	15,4	18,2	19,1	20,8	21,5	20,8	21,8	20,8	21,8	21,8	21,6
moyennes	10,7	15,0	17,6	19,2	20,1	20,7	21,2	21,4	21,6	21,6	21,7	21,7

4. ACTION DES ULTRA SONS SUR L'AMYLOSYNTHESE *IN VITRO*

CORI G T et CORI C T. (1936, 1937) signalent la présence d'un enzyme, extrait de tissus animaux capable de former le glucose 1 phosphate à partir de glycogène avec fixation de phosphore minéral. Cette action est réversible et permet la synthèse de polysaccharides. Ces auteurs (1942) obtiennent un enzyme cristallisé à partir d'extraits de muscles de lapin : c'est une phosphorylase. Des enzymes analogues provenant d'autres sources (pommes de terre, levures, pois) permettent également la synthèse d'amylose ainsi que d'autres polysaccharides du type du glycogène (PIGMAN, GOEPP, 1948). HANES (1940) décrit une méthode permettant d'obtenir, en partant de tubercules de pommes de terre, des solutions enzymatiques partiellement purifiées et très actives, catalysant la synthèse d'amidon selon le principe :

$$\text{amidon} \underset{\text{- phosphate}}{\overset{\text{+ phosphate}}{\rightleftharpoons}} \text{glucose 1 phosphate}$$

Dans un milieu constitué de phosphorylase très purifiée et de glucose 1 phosphate la synthèse n'a pas lieu. La présence d'une molécule initiatrice "Primer" constituée de quelques unités de glucose est indispensable (WEIBULL et TISELIUS, 1945). Dans ces conditions l'amidon synthétisé est uniquement formé de chaînes linéaires (amylose) résultant de l'accroissement des "Primer" (multi-chain action, WHELAND et BAILEY, 1954).

$$G\text{-}1\text{-}P + (G)n \rightarrow (G)n + 1 + \text{phosphore}$$

Dans cette formule (G)n représente le "Primer".

Ceci conduit au problème de l'origine du glycogène et des autres formes ramifiées (amylopectine). On a fait l'hypothèse d'un enzyme spécial, dit enzyme de branchement, produisant les structures ramifiées à partir de structures linéaires. Cet enzyme de branchement, enzyme "Q" lorsqu'il s'agit d'extraits de pommes de terre, a été isolé par BARKER, BOURNE, WILKINSON et PEAT (1950) et obtenu à l'état cristallisé par GILBERT et PATRICK (1952). Lorsque la phosphorylase agit sur le substrat (G-1-P) en présence de l'enzyme "Q" il y a formation d'amylopectine, si l'enzyme "Q" agit isolément sur l'amylose, des structures ramifiées analogues à l'amylopectine sont synthétisées. Des extraits enzymatiques qui ne sont que partiellement purifiés (méthode d'extraction de HANES, 1940) renferment la phosphorylase, l'enzyme "Q" des "Primer". Ces solutions satisfont aux conditions nécessaires à la synthèse d'amidon et mis

en contact avec le substrat permettent la formation d amylose et d'amylopectine.

Cette réaction de synthèse d amidon est aisément réalisable et reproductible avec une grande régularité. Nous l'avons choisie pour ces raisons comme test en vue de définir certaines modalités d action des ultra sons en fonction des facteurs physiques qui s'y rattachent.

Matériel et méthodes

Préparation de l'extrait enzymatique

La méthode utilisée est basée sur le principe de précipitations fractionnées par l intermédiaire du sulfate d ammonium. Nous avons adopté la méthode d extraction indiquée par HANES (1940).

Environ 500 g de pommes de terre sont réduits en purée en présence de toluène Soumis à la presse cette purée donne environ 250 ml de jus Cet extrait est agité en présence de kaolin et centrifugé on recueille le surnageant. On mélange 200 ml de ce jus et 200 ml d une solution de sulfate d ammonium saturée. Le précipité qui se forme est isolé par filtration à 0° et par la suite dissous dans 100 ml d eau A ce liquide on ajoute la solution de sulfate d ammonium saturée jusqu à obtention d'une densité de 1 085 (0 08 g / ml) on centrifuge et rejette le précipité. A cette solution on ajoute à nouveau la solution de sulfate d ammonium jusqu à obtention d'une densité de 1 145 (0,15 g/ml) on centrifuge et recueille le précipité. Ce précipité est dissous dans 100 ml d eau (pH ajusté à 6 0) et conservé sous toluène à 0°. Cet extrait sert à toutes les expériences qui suivent.

- *Substrat*

Nous utilisons une solution de glucose 1 phosphate (produit commercial) de 50 mg par ml.

- *Mesure de l'activité enzymatique*

Nous avons utilisé deux méthodes

1) Il est possible de comparer les quantités relatives d'amidon synthétisé en mesurant par colorimétrie la teinte bleue obtenue après addition d'iode ioduré. Cette méthode, souvent utilisée dans les études de dégradation enzymatique de l'amidon (HANES et CATTLE, 1938) s'avère intéressante parce qu'elle permet d'obtenir des mesures nombreuses dans un temps restreint

(le dosage de six échantillons est réalisé en moins de 15 minutes). Nous avons utilisé au cours de nos expériences une solution d'iode ioduré de dilution telle que la coloration de l'amidon reste stable durant environ une heure : l'excès d'iode diminue la sensibilité de la mesure, la déficience en iode est une cause d'instabilité de la coloration en fonction du temps.

Les mesures sont faites au spectro-colorimètre à la longueur d'onde de 600 mμ. Des essais préliminaires ont montré qu'à cette longueur d'onde les solutions à mesurer présentent un maximum d absorption qui ne varie pas significativement en fonction des différentes concentrations obtenues au cours des expériences. Les échantillons que nous soumettons au colorimètre sont des solutions limpides ne présentant pas de particules visibles en suspension.

2) Une autre méthode de mesure de l'activité enzymatique consiste à évaluer les quantités d amidon formé par le complexe G-1 P et extrait enzymatique par le dosage des quantités de phosphore minéral libérées par le G 1 P. Dans nos expériences nous avons appliqué la méthode de dosage de phosphore minéral en présence d esters phosphoriques décrite par **DELSAL** et **MANHOURI** (1958).

On prélève 1 ml de la solution à doser, on ajoute 5 ml de tampon acétique 2 N à pH 4,0, 1 ml de molybdate d'ammonium 5 % 1 ml de réactif rhodol-sulfite. Après trois minutes d'attente on mesure au colorimètre, à 800 mμ. Une courbe étalon est réalisée à l'aide de dilutions successives d'une solution de PO^4HNa^2 contenant de 5 à 25 γ par ml. Le colorimètre est réglé à 100 % de lumière transmise par un blanc.

Expériences et résultats.

1) *Témoins* :

Un becher contenant 5 ml d'extrait enzymatique et 5 ml d'une solution de G-1-P à 50 mg par ml, pH ajusté à 6,0, est placé dans un bain thermostatique à 20° (± 0,5°). Après des temps échelonnés entre 0 et 60 minutes on prélève 1 ml du mélange des réactifs et l'on dilue dix fois par de l'eau. On procède au dosage du phosphore contenu dans 1 ml de cette solution. Les résultats obtenus, exprimés en γ par ml, sont portés sur un diagramme (6). Sur un autre diagramme (7) figurent les résultats obtenus par le dosage colorimétrique de l'amidon.

Dans ces deux cas, ainsi que dans les expériences qui suivent, les points qui figurent sur les diagrammes représentent

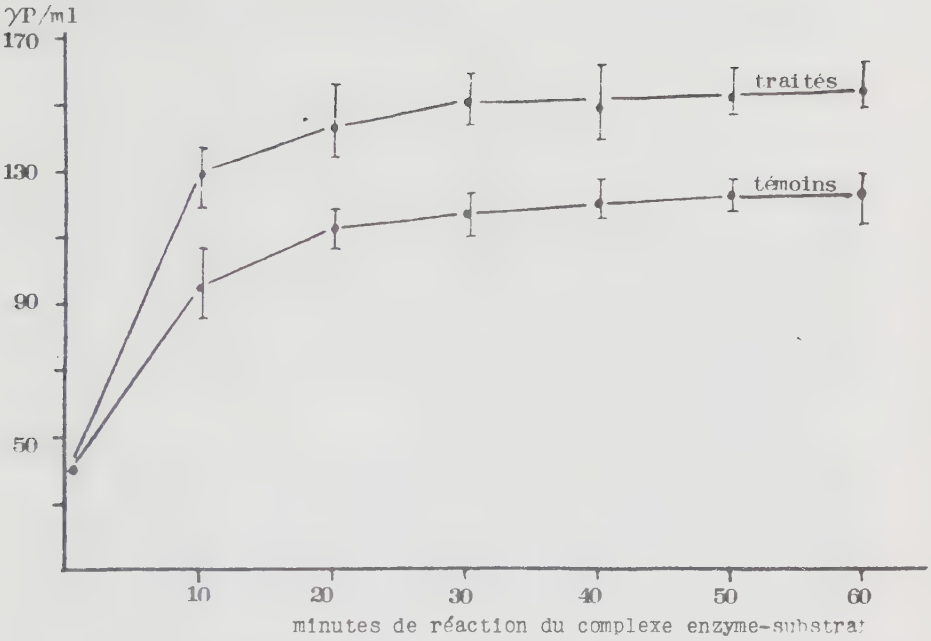

Diagramme 6 - Action des ultra-sons de 350 Kc sur l'amylo-synthèse. Traitement de 10 minutes. Dosage du phosphore minéral.

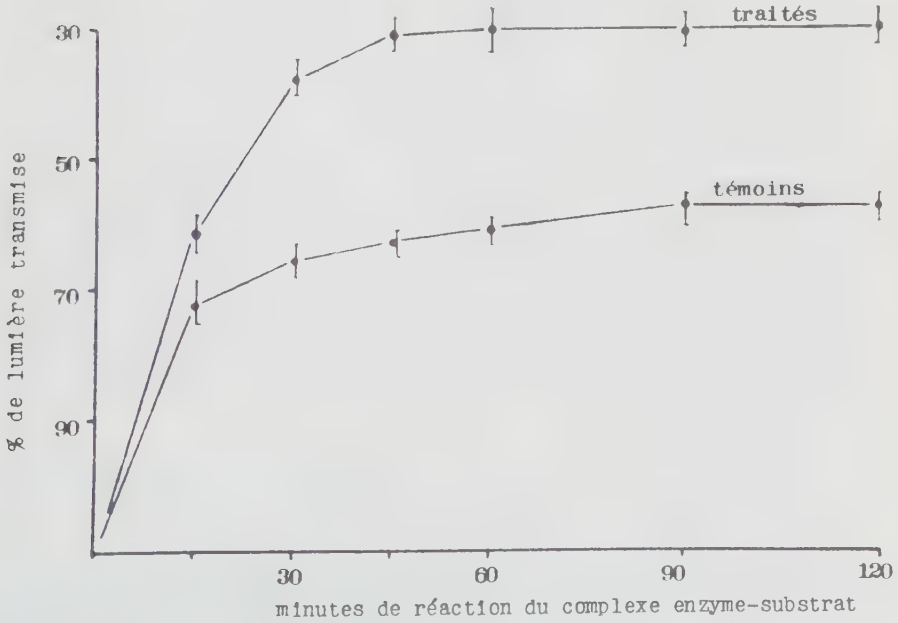

Diagramme 7 - Action des ultra-sons de 350 Kc sur l'amylo-synthèse. Traitement de 10 minutes. Dosage colorimétrique de l'amidon.

la valeur moyenne de 3 ou 6 expériences. Les conclusions formulées se basent sur l'analyse statistique des valeurs obtenues.

2) *Traitement du complexe enzyme-substrat aux ultra-sons* :

Un mélange, identique au précédent, est soumis durant 10 minutes aux ultra-sons de 350 Kc. L'énergie est réglée de façin à dépasser de peu le seuil de cavitation du complexe traité. Une réfrigération par circulation d'eau assure la constance de température de 20°, ± 1° A la suite du traitement nous procédons, aux mêmes intervalles de temps choisis pour les témoins, à des prélèvements et nous dosons d'une part le phosphore, d'autre part l'amidon, comme précédemment. Les résultats obtenus sont portés sur les diagrammes 6 et 7.

Ces courbes, tant celles concernant le dosage du phosphore que celles concernant l'évaluation des quantités relatives d'amidon, font apparaître une très nette stimulation de l'amylosynthèse après le traitement du complexe enzyme-substrat aux ultra-sons. Les différences relevées entre témoins et traités sont significatives au seuil de probabilité de 99 %.

3) *Traitement du complexe durant des temps variables* :

Dans cette série d'expériences les conditions expérimentales sont identiques aux précédentes, mais nous considérons comme variable le temps de traitement aux ultra-sons. Nous avons vu par les expériences précédentes que les quantités relatives d'amidon synthétisé, ou les quantités de phosphore minéral libérées, atteignent un maximum après une quarantaine de minutes de réaction et que pour des durées plus longues ces valeurs ne varient plus de façon appréciable. Dans les expériences qui suivent nous attendons, après le traitement aux ultra-sons, 60 minutes avant de procéder au dosage tant du phosphore que de l'amidon. Durant ce temps les échantillons traités sont maintenus à une température constante (20° ± 0,5°) dans un bain thermostatique. Nous avons porté les résultats ainsi obtenus, à la suite d'irradiations durant des temps de 10 à 70 minutes, sur les diagrammes 8 et 9.

4) *Traitement de l'extrait enzymatique seul durant des temps variables* :

Nous soumettons la solution enzymatique, avant de la mettre en contact avec le substrat, à l'action des ultra-sons durant des temps variables. Après le traitement l'extrait enzymatique et le substrat sont mélangés et restent, avant les opérations de

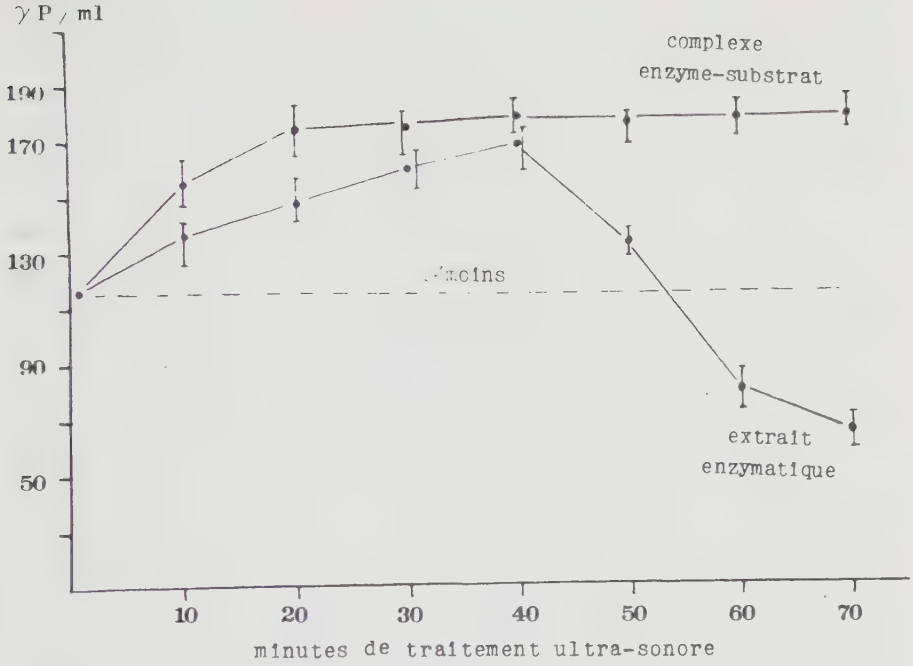

Diagramme 8 - Action des U.S. de 350 Kc sur l'amylo-synthèse. Dosage du phosphore minéral.

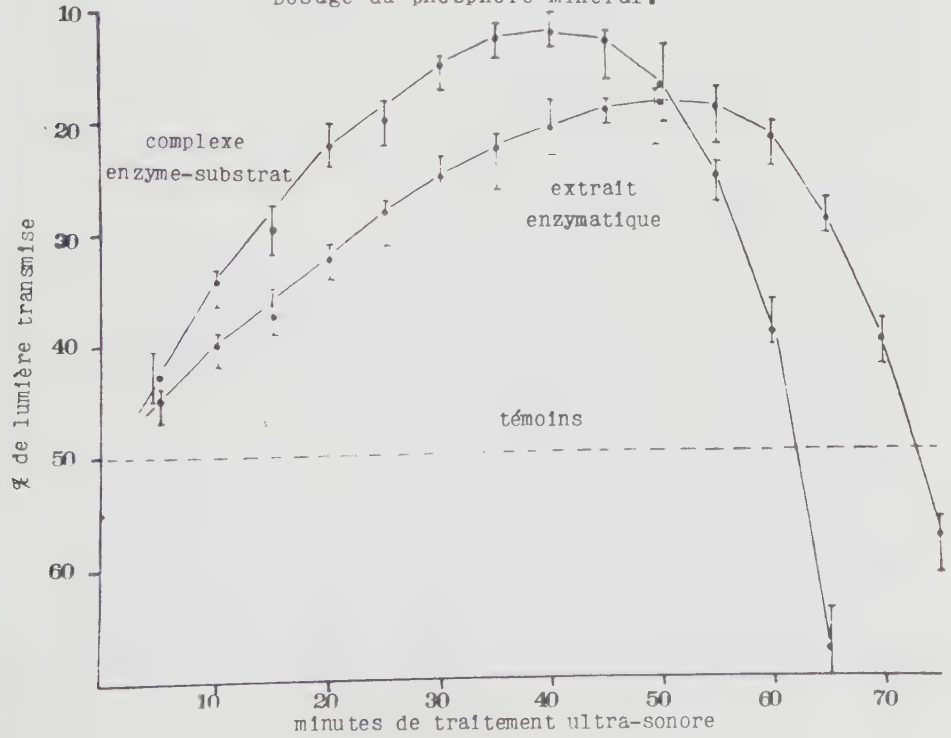

Diagramme 9 - Action des U.S. de 350 Kc sur l'amylo-synthèse. Dosage colorimétrique de l'amidon.

dosage, durant 60 minutes dans le bain thermostatique à 20°. Toutes les autres conditions expérimentales sont identiques à celles des expériences précédentes. Les résultats obtenus figurent sur les diagrammes 8 pour le dosage du phosphore et 9 pour le dosage de l'amidon.

Des expériences que nous venons de décrire il apparaît que, si nous considérons les résultats obtenus par le dosage du phosphore, le traitement aux ultra-sons du complexe enzyme-substrat a pour conséquence une stimulation de la synthèse d'amidon : un effet positif se manifeste pour des temps de traitement relativement brefs, de l'ordre de 5 à 10 minutes, et va en augmentant jusque vers 40 minutes. Les quantités relatives d'amidon synthétisé sont nettement supérieures à celles obtenues par les témoins.

La cinétique de cette réaction est fortement sous la dépendance des variations de température et, malgré les précautions de réfrigération prises durant le traitement, nous ne pouvons affirmer avec certitude que l'action des ultra-sons se traduit par un effet autre qu'une action thermique (nous avons montré par l'étude des altérations morphologiques de la cellule que des perturbations intra-cellulaires de nature nettement thermique se manifestent en l'absence d'une augmentation de la température du milieu d'immersion durant le traitement).

Les expériences qui consistent à traiter l'extrait enzymatique seul, avant sa mise en contact avec le substrat, font également apparaître, pour des temps de traitement de 5 à 40 minutes, un effet positif. Dans ce cas un effet thermique est peu probable, il est plus vraisemblable que nous avons à faire à une action mécanique qui produirait la dispersion des agrégats moléculaires. Si nous comparons les courbes obtenues par le traitement du complexe et par le traitement de l'extrait seul (diagramme 8), il apparaît qu'elles sont, pour des irradiations inférieures à 40 minutes, très voisines. Ceci nous permet d'admettre que, dans les deux cas, l'effet est essentiellement de nature mécanique. Lorsque les temps d'irradiation de l'extrait enzymatique sont supérieurs à 40 minutes, la stimulation diminue rapidement et l'effet de la vibration se traduit par une action négative. Dans ce cas une interprétation du mode d'action des ultra-sons ne nous paraît pas possible, il peut s'agir tant d'une action mécanique que d'une action thermique.

Les résultats obtenus par le dosage colorimétrique de l'amidon (diagramme 9), confirment, pour des temps d'irradiation ne dépassant guère 40 minutes, les conclusions précédentes. Une irradiation de plus longue durée entraîne, dans les deux cas, traitement du complexe et traitement de l'extrait enzymatique, une diminution des quantités d'amidon synthétisé. En ce qui concerne l'extrait enzymatique, ces résultats sont comparables aux précédents: par contre, dans le cas du complexe, nous constatons un effet négatif que le dosage du phosphore n'a pas mis en évidence il est vraisemblable qu'il s'agit d'un effet secondaire consistant en une dégradation de l'amidon synthétisé. A. Szalay (1933) Szent GYÖRGYI (1944), ont montré que sous l'action des ultra-sons l'amidon peut se décomposer en dextrines.

Ce test comparé à ceux précédemment étudiés, offre un caractère nouveau : nous constatons que dans une certaine limite l action des ultra sons est positive stimulante, alors que dans tous les cas précédents nous avons observé des actions négatives, toujours inhibitrices ou destructrices.

Traitement de 10 minutes du complexe enzyme-substrat.
1) *Dosage du phosphore (valeurs exprimées en γ/ml)*

	Durée de la réaction de synthèse en minutes						
	0	10	20	30	40	50	60
Témoins	36	86	114	118	120	118	128
	48	98	108	112	118	128	114
	42	94	120	124	128	126	130
moyennes	42	92	114	118	122	124	126
Traités		138	158	146	146	148	150
		120	138	150	140	152	164
		132	136	160	164	162	154
moyennes		130	142	152	150	154	156

2) *Dosage colorimétrique de l'amidon*
(valeurs exprimées en % de lumière transmise)

	Durée de la réaction de synthèse en minutes					
	15	30	45	60	90	120
Témoins	75	64	64	63	58	57
	72	65	62	60	56	57
	69	64	62	63	56	56
	75	68	63	61	60	57
	71	68	65	61	57	59
	74	67	64	60	56	58
moyennes	72,4	66	63,3	61,3	57,1	57,2
Traités	60	40	29	29	33	28
	62	36	29	28	28	28
	62	36	32	32	29	30
	60	38	33	30	28	29
	64	40	30	32	32	32
	63	38	31	29	32	31
moyennes	61,2	38	30,6	30,4	30,2	29,4

Traitement durant des temps variables.

1) *Dosage du phosphore (valeurs exprimées en γ/ml)*

	Durée du traitement U.S. en minutes						
	10	20	30	40	50	60	70
Complexe enzyme-substrat	148	172	176	184	170	180	184
	152	166	180	176	178	172	178
	164	184	182	186	180	188	178
moyennes	154	174	176	182	176	180	180
Extrait enzymatique	142	142	160	160	138	82	64
	126	146	154	174	128	72	58
	142	158	168	176	138	86	70
moyennes	136	148	160	170	134	80	64

2) *Dosage de l'amidon*

(valeurs exprimées en % de lumière transmise)

Complexe enzyme-substrat

Durée du traitement U.S. en minutes														
5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
45	36	30	24	18	14	12	10	12	16	27	38	67		
43	34	32	23	21	17	14	12	15	13	24	39	66		
44	35	30	20	22	15	12	10	13	15	25	40	65		
42	34	31	22	20	16	14	11	16	20	24	40	64		
42	34	29	23	18	14	11	13	12	17	24	36	70		
43	33	28	22	21	14	12	10	12	18	26	37	67		
43,1	34,3	30	22,3	20	15	12,2	12,6	13	16	25	38,3	66,5		

Extrait enzymatique

45	39	39	32	31	26	22	18	19	18	18	20	27	42	59
44	42	37	32	28	26	24	21	20	20	20	24	30	40	60
45	39	37	34	28	25	22	20	19	22	22	23	30	42	56
45	39	38	32	29	27	26	21	18	17	17	21	28	38	56
47	41	39	33	28	25	21	20	19	17	18	20	28	39	59
46	42	38	31	29	23	21	22	19	18	17	22	29	38	61
45,3	40,3	38	32,3	28,8	25,3	22,6	20,3	18,8	18,6	18,6	21,5	28,6	39,7	58,5

*

* *

CHAPITRE II

LES MECANISMES D'ACTION : RÔLE DE DIVERS FACTEURS PHYSIQUES

RÔLE DE LA CAVITATION.

RÔLE DE LA FREQUENCE.

RÔLE DES PHASES GAZEUSES PREFORMEES.

RÔLE DES GAZ DISSOUS.

- - - -

I. -- ROLE DE LA CAVITATION.

Il est généralement admis que ce phénomène est à la base de la plupart des effets dus aux ultra sons dans les domaines de la physique de la chimie et de la biologie. Par les observations et expériences qui suivent nous essayons d isoler dans chacun de nos tests la part des perturbations produites par des bulles de cavitation, de situer ainsi le role de ce facteur et d en préciser dans une certaine mesure le mode d action.

Dans cette étude nous ne faisons pas la différence entre la vraie cavitation et la pseudo cavitation compte tenu des fréquences (350 1000 et 3000 Kc) et intensités (inférieures à 3W/cm2) utilisées c est la cavitation des gaz dissous donc la pseudo-cavitation qui intervient.

Des observations comparées sont faites en présence et en l absence de cavitation. Pour éviter la cavitation, toutes autres conditions expérimentales étant les memes nous faisons subir un dégazage poussé à l eau contenue dans la cuve d observation L expérience nous a montré qu un très bon dégazage est obtenu par l action simultanée du vide et des ultra-sons ; un ballon contenant une centaine de ml d eau est soumis à la vibration de 350 Kc à une intensité supérieure au seuil de cavitation et relié à une trompe à eau le dégazage est bon après une vingtaine de minutes de traitement Cette eau est alors transvasée dans la cuve d observation Cette opération même exécutée avec beaucoup de précautions pourrait entrainer une redissolution partielle de gaz dans l eau Malgré cela nous constatons en observant l eau de la cuve durant l irradiation l absence de bulles gazeuses.

En plus une autre méthode nous permet de vérifier l absence de cavitation nous ajoutons à l'eau de la cuve une petite quantité d iodure de potassium et à la fin des expériences nous vérifions par addition d empois d'amidon l absence d iode libéré (la dissociation de l iodure de potassium ne se produit qu en présence de cavitation) (DOGNON, SIMONOT, 1952)

On pourrait penser que des cellules traitées dans un milieu dégazé subissent une cavitation intracellulaire. Le contraire est admis il est connu (DOGNON, 1953) que la cavitation, meme dans une eau riche en gaz dissous n a pas lieu dans des tubes

relativement fins (diamètre de l'ordre d'un mm), ni lorsque le liquide est étalé en lame mince. Nous avons vérifié ce fait à l'aide de modèles artificiels : un tube en collodion d'environ 1 mm de diamètre intérieur, à membrane très fine, est rempli d'une solution d'iodure de potassium et fermé aux deux extrémités. Ce tube est immergé dans un becher rempli d'eau et soumis à la vibration. Un traitement à 350 Kc, à une intensité d'environ 3 W/cm^2, donc de loin supérieure au seuil de cavitation, ne produit dans le tube aucune dissociation apparente de l'IK même après une demi-heure d'irradiation. D'autre part nous savons que des milieux liquides aussi visqueux que le cytoplasme entrent bien plus difficilement en cavitation que l'eau (BERGMANN 1954). Finalement, comme nous l'avons déjà décrit, les perturbations produites par la cavitation sont intenses et rapides; en l'absence de phases gazeuses dans le milieu extérieur à la cellule ces altérations ne se produisent pas.

A.- Les perturbations cellulaires : *Spirogyra*.

L'observation des cellules d'un filament de *Spirogyra*, durant le traitement dans les deux conditions citées, présence et absence de cavitation, montre que parmi les trois types de tourbillons précédemment décrits, les mouvements appelés intenses et ceux appelés moyens sont étroitement liés à la présence de bulles de cavitation.

Un tourbillon intense prend naissance dans une cellule si une bulle de cavitation se fixe au niveau de la membrane cellulaire. Il est nécessaire qu'un contact étroit s'établisse entre la bulle gazeuse et la membrane cellulaire, le voisinage de la bulle est insuffisant pour produire un effet apparent dans la cellule. Si une bulle active se déplace ou si elle disparaît, le mouvement de brassage s'arrête immédiatement. Les divers stades de destruction signalés, tourbillons, émulsion, déchirures de membranes, sont conditionnés par la durée d'action de la bulle.

Les tourbillons dits moyens se produisent irrégulièrement. Lorsqu'ils se manifestent, il y a toujours, sur le même filament d'algue, à faible distance, une cellule à tourbillon intense engendré par une bulle. Le tourbillon moyen est donc indirectement lié à la cavitation. Un tourbillon intense n'induit pas nécessairement un ou plusieurs tourbillons moyens; une autre condition, qui nous échappe, est nécessaire à leur réalisation.

En l'absence de cavitation, donc de bulles gazeuses, on n'observe jamais de telles perturbations, mais des tourbillons très faibles au niveau des cloisons transversales se manifestent avec beaucoup de régularité.

Mode d'action des bulles de cavitation :

L'observation des tourbillons intenses et des bulles de cavitation qui les engendrent permet de distinguer plusieurs modalités d'action que nous avons groupées en trois catégories nettement distinctes :

1° Le cas fréquent est celui d'une bulle de cavitation de diamètre relativement grand (0,05 à 0,1 mm) Cette bulle, lorsqu'elle est fixée à la membrane d'une cellule et reste en place, agit comme précédemment décrit. Selon le temps d'action de la bulle, limité par son déplacement ou sa disparition, tous les stades intermédiaires d'altérations sont possibles : dislocation du chloroplaste en fragments de plus en plus petits, passage progressif à l'émulsion fine, déchirure de la membrane cellulaire. Quelquefois on observe une telle bulle qui se fixe à une membrane, reste en place et perturbe le contenu cellulaire. L'arrêt de l'irradiation n'entraîne pas son déplacement et si, après un temps d'attente, on remet le générateur en marche, cette bulle continue à produire le même effet sur la cellule.

2° Dans d'autres cas, plus rares, on assiste à l'apparition d'une bulle gazeuse de faible diamètre, de l'ordre de 0,05 mm, qui se fixe au niveau de la membrane d'une cellule et entraîne dans celle-ci l'apparition du mouvement tourbillonnaire. Durant l'irradiation le diamètre de la bulle décroît rapidement jusqu'à sa disparition et on constate que lorsqu'elle atteint un certain diamètre l'intensité du tourbillon atteint un maximum et souvent l'émulsion du contenu cellulaire se produit spontanément. Ce phénomène se déroule en l'espace d'une ou deux secondes et de ce fait la mesure du diamètre critique de la bulle est difficile. Il est vraisemblable que ce diamètre correspond à la dimension de résonance de la bulle; l'ordre de grandeur, inférieure à 0,05 mm, permet de l'admettre. Selon la formule proposée par SMITH F. (1935) pour le calcul approché du diamètre de résonance d'une bulle : $N_R = \frac{0,657}{d}$ Kc (N_R est la fréquence de résonance, d le diamètre de la bulle), cette valeur est pour la fréquence de 350 Kc de l'ordre de 0,018 mm

3° Un troisième cas peut se présenter : un tourbillon intense ou une émulsion se produit, très rapidement, dans une fraction

de seconde, sans qu'il soit possible de discerner la présence d'une bulle gazeuse Ce processus fait penser à l'action d'une bulle de cavitation de très faible diamètre qui peut agir soit au moment de sa formation par une onde de compression de très forte amplitude, soit au moment de sa disparition, consécutive à une phase de compression avec libération d'énergie sous forme d'onde de choc Des perturbations de ce type n'ont pas lieu en eau bien dégazée, ce fait renforce l'hypothèse d'une action liée à la présence d'une bulle de cavitation Compte tenu de la faible dimension de la bulle supposée et de la rapidité du phénomène, il est évident que ce processus échappe à l'observation

En résumé, ces observations mettent en évidence que toute perturbation violente et rapide est due à la présence d'une bulle gazeuse de cavitation L'expérience montre que les altérations lentes qui se manifestent par le comportement des plastes et noyaux sont absolument indépendantes de ce phénomène elles se produisent aussi bien en présence qu en l'absence de cavitation Il en est de meme des tourbillons faibles qui se produisent au niveau des cloisons transversales

Localisation des effets de bulles en régime d'ondes stationnaires

Nous venons de voir, en observant des perturbations cellulaires qu'en cas de cavitation les ultra sons agissent par l'intermédiaire des bulles gazeuses formées les effets sont de nature mécanique Si dans une cuve remplie d eau un régime d'ondes stationnaires s établit les bulles de cavitation naissent au niveau des ventres de pression et se déplacent ensuite rapidement vers les noeuds de pression Dans un tel système stationnaire nous pouvons donc dissocier dans l espace les différents types de bulles de cavitation que nous venons d observer les bulles visibles, de diamètre varié, se localisent au niveau des noeuds. les bulles supposées, invisibles, au niveau des ventres.

GOLDMAN et LEPESCHKIN (1952) ont étudié le comportement de filaments de *Spirogyra* traités dans ces conditions et ont constaté que les altérations cellulaires se produisent au niveau des ventres de pression et s'étendent rapidement à toutes les autres cellules En l absence de cavitation les perturbations sont lentes et se limitent au niveau des noeuds de pression

ANGERER (1949) ainsi que ROSSBERG (1959) étudient le phénomène d hémolyse en régime d'ondes stationnaires Ces deux auteurs

constatent qu'un maximum d'hémolyse se produit au niveau des noeuds de pression et que cet effet est lié à la présence de bulles de cavitation.

Dans les expériences qui suivent nous observons les cellules d'un filament de *Spirogyra* traité en système d'ondes stationnaires, en présence de cavitation. Le filament d'algue est orienté perpendiculairement à la position des ondes stationnaires et traité à la fréquence de 350 Kc à une intensité légèrement supérieure au seuil de cavitation. Les noeuds et ventres de pression sont repérés par la position des bulles de cavitation visibles, situées au niveau des noeuds. L'observation des cellules a lieu durant l'irradiation, voici les résultats obtenus :

temps de	type d'altération	localisation
1 à 2 secondes	tourbillons intenses, fragmentation du chloroplaste. Action très brève.	Au niveau des ventres. Une seule cellule est touchée. L'effet ne se produit pas régulièrement au niveau de tous les ventres.
15 secondes	tourbillons intenses, cellules émulsionnées.	Pas de localisation apparente. Souvent plusieurs cellules voisines sont touchées.
3 minutes	Toutes les cellules sont touchées. Tourbillons intenses, émulsions, déchirures de membranes.	Les cellules à membranes déchirées sont localisées au niveau des noeuds de pression.

Nous interprétons ces résultats de la façon suivante :

1) *Effets localisés au niveau des ventres de pression :*

Au moment de la mise en marche du générateur la bulle de cavitation naît au niveau d'un ventre (zone de dépression). Cette bulle agit sur la cellule si elle est en contact avec sa membrane. Nous supposons la présence de cette bulle, car elle n'est pas visible, mais étant donné la nature de la perturbation cellulaire produite (tourbillon intense) et sachant que ce type d'altération n'a pas lieu en milieu dégazé, nous avons tout lieu d'admettre que la bulle est présente et échappe à l'observation, du fait de sa faible dimension et de la rapidité du phénomène. Ces perturbations présentent souvent un caractère explosif.

2) *Absence d'effets localisés :*

La bulle qui vient de naître se déplace du ventre vers le noeud de pression, augmente en même temps de volume et devient

apparente. Une telle bulle peut agir au moment de sa naissance, de même au cours de son trajet, sur les cellules disposées très près de son parcours. Ces actions sont, du fait du mouvement de la bulle, de courte durée.

3) *Effets localisés au niveau des noeuds :*

Ces effets se manifestent à la suite d'un traitement de quelques minutes. Après avoir atteint le niveau d'un noeud, la bulle de cavitation oscille sur place et de ce fait peut, si elle reste en contact avec la membrane d'une cellule, agir assez longtemps pour produire la déchirure.

Nous avons donc deux possibilités de localisation, selon la durée d'irradiation. L'expérience montre qu'il convient d'attacher moins d'importance au premier cas : action au niveau des ventres, cet effet ne s'observe que très irrégulièrement, il faut répéter l'expérience de nombreuses fois pour déceler avec certitude cette action. Par contre les effets localisés au niveau des noeuds, apparaissant à la suite de quelques minutes de traitement, sont très réguliers et très intenses.

Perturbations cellulaires observées sur des feuilles d'Elodea et de Mnium.

Si nous remplaçons le filament de *Spirogyra* par des feuilles d'*Elodea* ou par des feuilles de *Mnium*, nous observons, en cas de cavitation, des altérations cellulaires comparables. Lorsqu'une bulle de cavitation se fixe à la surface d'une feuille elle peut produire, dans les cellules les plus proches, des tourbillons intra-cellulaires, l'émulsion du contenu cellulaire, des déchirures de membranes. Comme pour les cellules de *Spirogyra*, le degré d'altération dépend du contact bulle-membrane, de la taille de la bulle, du temps durant lequel elle reste en place. Le nombre de cellules perturbées par une seule bulle est variable : rarement une seule, souvent 4 à 6, quelquefois plus d'une dizaine réparties assez régulièrement en zone concentrique autour du lieu de fixation de la bulle (Fig. 10).

Dans l'exemple précédent (*Spirogyra*) une bulle ne perturbe qu'une seule cellule, rarement deux lorsqu'elle est placée à cheval entre deux cellules voisines. Une transmission d'énergie aux cellules voisines par l'intermédiaire des cloisons transversales n'a pas lieu. Dans le cas de *Mnium* ou d'*Elodea*

une telle transmission a certainement lieu puisque la bulle ne peut être à la fois en contact avec plus de quatre cellules et le nombre total de cellules perturbées est souvent plus grand.

Une autre différence de comportement apparaît entre les cellules de *Spirogyra* et celles de *Mnium* et d'*Elodea* : en l'absence de cavitation on observe la formation de tourbillons intenses dans ces deux types de feuilles. Chez *Mnium* ces perturbations violentes se manifestent parfois dans les cellules qui entourent une cellule morte (Fig. 11); dans la feuille d'*Elodea* ce sont des zones, nombreuses, alignées suivant une direction parallèle à la nervure, qui sont ainsi affectées.

Ce type de perturbation est très comparable à celui qui se manifeste au voisinage d'une bulle de cavitation, il en diffère essentiellement par sa stabilité. Ces tourbillons durent tant que dure l'irradiation, ne changent ni de place, ni de sens, ni

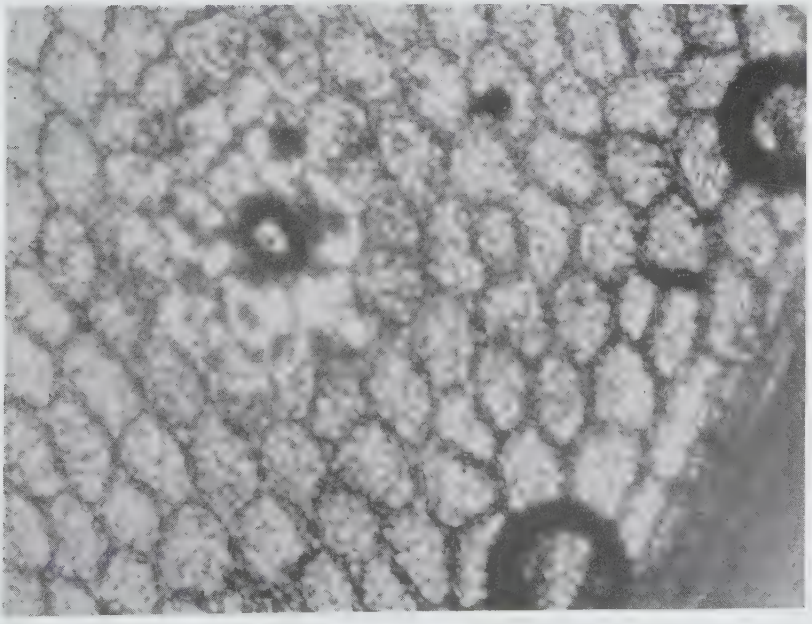

Fig. 10 - *Mnium*, cellules détruites autour d'une bulle de cavitation.

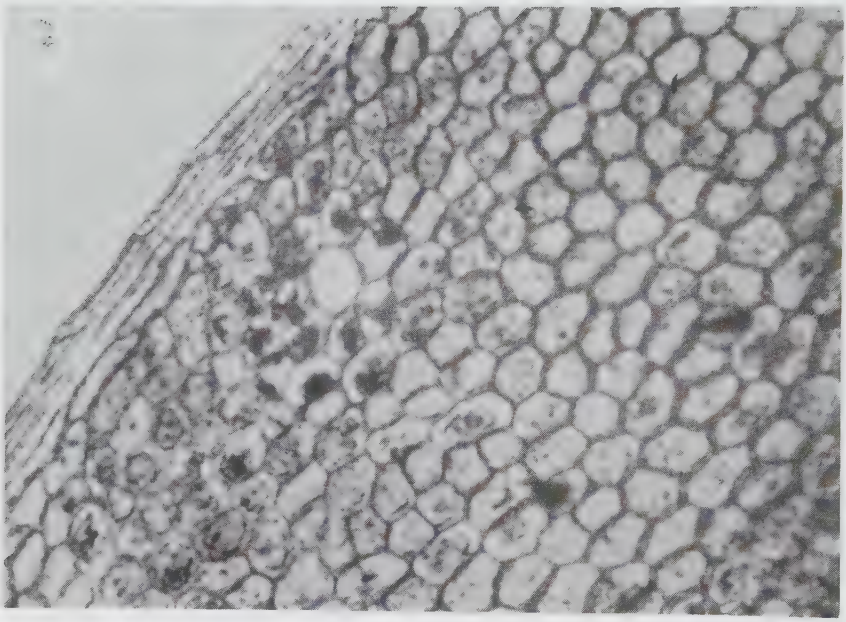

Fig. 11 - *Mnium*, cellules détruites autour d'une cellule morte.

d'intensité. En l'absence de cavitation, les tourbillons faibles, si réguliers dans les cellules de *Spirogyra*, font défaut dans les cellules de *Mnium*; par contre nous les retrouvons avec une certaine régularité dans les cellules de feuilles d'*Elodea*.

B - **L'inhibition de la réduction du nitrate d'argent par la cellule.**

En observant la réduction du nitrate d'argent par les cellules foliaires d'*Elodea* et de *Mnium*, nous avons constaté qu'un traitement à 1000 Kc, en présence de cavitation, a pour conséquence une très nette inhibition du pouvoir réducteur de la cellule.

Nous reprenons ces expériences en supprimant, par dégazage, la cavitation de l'eau de la cuve de traitement, toutes les autres conditions expérimentales restant les mêmes. Nous avons représenté sur le diagramme 10 les résultats ainsi obtenus en traitant des feuilles d'*Elodea* (chaque point représente la

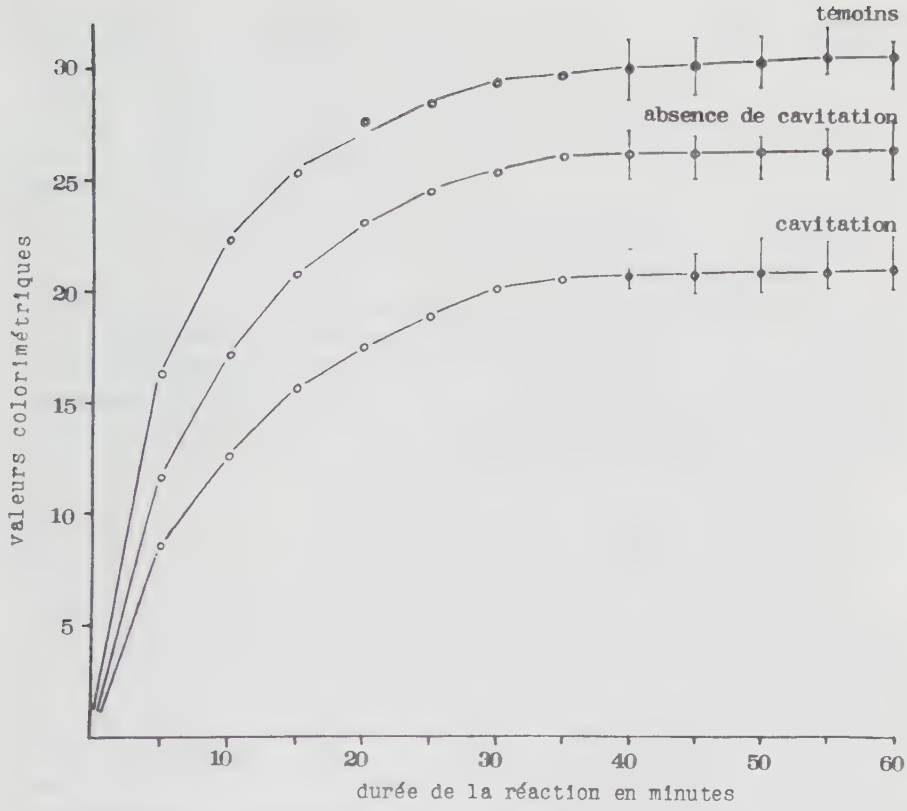

Diagramme 10 - Inhibition de la réduction du nitrate d'argent dans les cellules d'*Elodea*. 1000 Kc, présence et absence de cavitation.

Chiffres relevés au cours des expériences sur l'inhibition du **pouvoir réducteur des cellules foliaires d'*Elodea***

Traitement de 5 minutes

	Durée de réaction en minutes											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
1000 Kc cavitation	8,8	13,6	16,4	16,4	19,4	19,9	21,4	21,4	20,1	21,5	20,2	21,5
	7,8	11,8	16,9	18,8	19,0	20,0	19,9	20,8	21,7	21,9	21,4	19,8
	9,0	11,9	14,1	16,4	18,3	20,8	20,0	21,9	20,6	20,8	21,8	21,2
	7,6	12,6	15,8	18,1	18,6	19,2	20,5	20,0	21,8	21,2	20,8	21,9
	8,5	12,8	14,4	18,7	20,1	21,0	21,8	21,8	21,6	21,8	21,1	21,6
	9,3	13,0	16,6	16,6	19,2	21,5	21,2	20,2	20,8	20,0	21,9	21,8
moyennes	8,6	12,6	15,7	17,6	19,1	20,4	20,8	21,0	21,1	21,2	21,2	21,3
1000 Kc absence de cavitation	11,4	17,3	21 7	24 4	24 3	26 9	25 1	26 5	26 8	27 0	26 8	26 5
	10,8	16,8	19,2	22,4	25,9	24,0	26,4	28,5	25,4	26,0	25,9	25,6
	13,0	16,4	21,0	21,9	24,1	25,7	25,2	25,4	26,3	25,6	26,3	26,7
	12,0	18,0	20,1	23,1	25,6	26,4	28,6	28,3	28,5	27,6	28,7	27,4
	10,3	18,5	21,9	23,9	24,3	26,0	27,1	25,3	28,6	26,7	27,5	26,7
	13,3	16,2	21,7	24,1	24,6	25,8	26,0	28,4	26,0	27,3	27,6	27,8
moyennes	11,8	17,2	20,9	23,3	24,8	25,8	26,4	26,4	26,6	26,7	26,8	26,8

moyenne de six expériences) Afin de faciliter la comparaison nous portons sur le même diagramme la courbe relevée en cas de cavitation Il apparaît que la courbe relevée sur des feuilles traitées en l'absence de cavitation occupe une position intermédiaire entre celle des témoins et celle des feuilles traitées en présence de cavitation L'analyse statistique des chiffres met en évidence que cette courbe intermédiaire est significativement distincte des deux autres.

En traitant des feuilles de *Mnium* nous constatons qu'en l'absence de cavitation une inhibition du pouvoir réducteur ne se manifeste pas les valeurs relevées se confondent avec celles des feuilles témoins non traitées Nous verrons ultérieurement que cette différence entre *Elodea* et *Mnium* est liée à des différences de structure anatomique des feuilles

C - L'amylo-synthèse.

En étudiant ce test au chapitre précédent, nous avons constaté qu'en cas de cavitation, la fréquence de 350 Kc produit une activation croissante de la synthèse d'amidon à mesure que l'on augmente le temps de traitement, un maximum est atteint vers 40 minutes d'irradiation Nous avons repris ces expériences en respectant toutes les conditions adoptées précédemment mais en supprimant la cavitation. Le dégazage prolongé des solutions d'extrait enzymatique et des solutions de glucose-1-phosphate empêche toute cavitation, mais l'expérience nous a montré que, dans ces liquides, lorsqu'ils sont soumis à la vibration, des bulles gazeuses apparaissent après une quinzaine de minutes de traitement. Compte tenu de l'agitation de la surface de séparation liquide-air il est à supposer qu'une nouvelle dissolution d'air se produit dans le liquide et que de ce fait la cavitation des gaz dissous a lieu Nous avons remédié à cet inconvénient de la manière suivante les réactifs à traiter, 5 ml d'extrait enzymatique et 5 ml de solution de G-1-P, sont versés après dégazage dans un becher (50 ml) et recouverts d'une couche de paraffine d'environ 1 mm d'épaisseur. Ainsi tout contact liquide-air est évité et même pour des temps de traitement prolongés, de plus d'une heure, la cavitation fait défaut.

Les expériences réalisées dans ces conditions consistent à traiter, durant des temps qui varient entre 10 et 70 minutes, d'une part le complexe enzyme substrat, d'autre part l'extrait enzymatique seul avant son contact avec le substrat. Dans

tous les cas nous procédons au dosage, soit du phosphore minéral, soit de l'amidon par colorimétrie après une attente consécutive au traitement de 1 ordre d'une heure Les valeurs moyennes ainsi obtenues figurent sur deux diagrammes dont l'un (11) est consacré au dosage du phosphore, l'autre (12) au dosage de l'amidon

L'examen de ces courbes montre que dans ce processus de synthèse le traitement aux ultra-sons en l'absence de cavitation stimule légèrement la réaction, en particulier lorsque la vibration agit sur le complexe enzyme substrat Les deux méthodes de dosage donnent des résultats analogues Si nous comparons ces valeurs à celles relevées en cas de cavitation (p. 46) nous constatons que l'action positive observée en l'absence de cavitation est bien faible et lorsqu il s'agit du traitement de l'extrait enzymatique seul à peine significative. Il est intéressant de noter qu'un effet inhibiteur, consécutif à un traitement prolongé ne se produit qu'en cas de cavitation

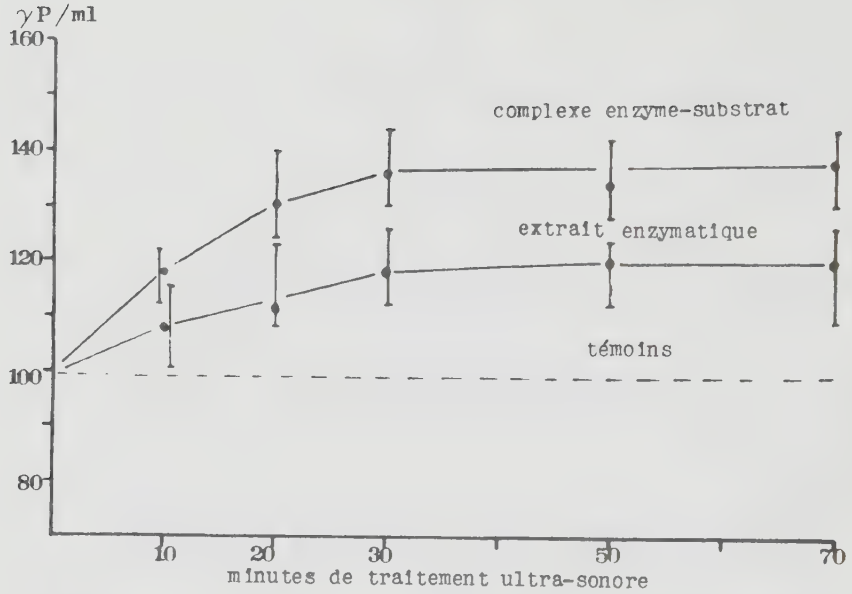

Diagramme 11 - Action des U.S. de 350 Kc sur l'amylo-synthèse; absence de cavitation. Dosage du phosphore minéral.

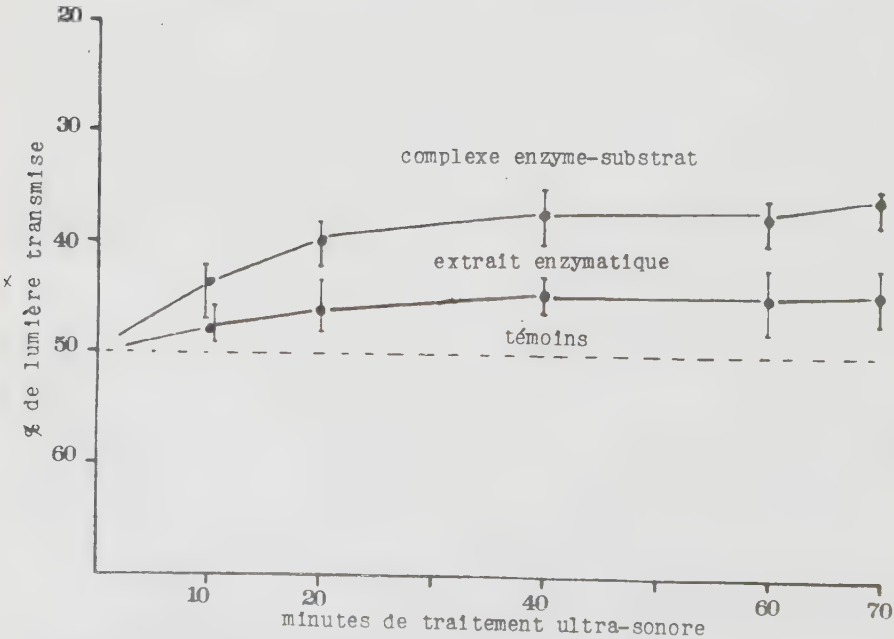

Diagramme 12 - Action des U.S. de 350 Kc sur l'amylo-synthèse; absence de cavitation. Dosage colorimétrique de l'amidon.

Amylo-synthèse

Traitement durant des temps variables en l absence de cavitation

Dosage du phosphore

	Temps de traitement en minutes				
	10	**20**	**30**	**50**	**70**
Complexe enzyme-substrat γ P/ml	112	124	130	128	130
	122	140	144	142	144
	120	126	134	132	140
moyennes	118	130	136	134	138
Extrait enzymatique	116	108	112	112	114
	100	124	126	124	126
	108	116	116	124	120
moyennes	108	116	118	120	120

Dosage colorimétrique de l'amidon

	10	**20**	**40**	**60**	**70**
Complexe enzyme-substrat lumière transmise en %	42	39	39	39	35
	44	39	40	36	38
	44	42	36	36	36
	42	38	37	39	37
	47	42	35	36	37
	46	41	36	40	35
moyennes	44,1	40	37,1	37,6	36,2
Extrait enzymatique	49	48	46	47	42
	46	45	44	43	45
	48	46	44	43	45
	48	43	43	46	47
	47	47	43	48	44
	47	45	45	42	43
moyennes	47,5	45,6	44,1	44,8	44,3

II. :- RÔLE DE LA FREQUENCE

A :- Les perturbations cellulaires.

Nos observations précédentes, sur le comportement de divers types cellulaires (*Spirogyra Elodea Mnium*), se rapportent à l'action des ultra-sons de 350 Kc. Nous comparons, dans cette partie, la nature et le degré des altérations cellulaires consécutives à des traitements aux fréquences de 350, 1000 et 3000 Kc. Ayant constaté le rôle important que joue la cavitation, nous étudierons l'action de ces fréquences dans les deux conditions : présence et absence de cavitation.

1) *SPIROGYRA*.

Cavitation. L'irradiation d'un filament de *Spirogyra* à 1000 Kc entraine des perturbations cellulaires importantes analogues à celles observées à 350 Kc, toujours liées à la présence d'une bulle de cavitation. Ce sont des tourbillons intenses, rarement des tourbillons moyens. Nous retrouvons des cellules émulsionnées, mais nous n'avons jamais observé de rupture de membrane, même pour des irradiations de plus de 30 minutes. A la fréquence de 3000 Kc, non seulement les déchirures de membranes ne se produisent pas, mais le stade émulsion n'est jamais atteint, l'action de la vibration se limite à la formation de tourbillons intenses, au voisinage immédiat des bulles gazeuses qui, selon leur durée, entraînent une fragmentation plus ou moins importante du chloroplaste.

Il apparaît très nettement qu'en cas de cavitation ces trois fréquences agissent, selon leur puissance destructive, en ordre décroissant : 350, 1000, 3000 Kc. A toutes ces fréquences nous retrouvons, avec la régularité qui les caractérise, les tourbillons faibles au niveau des cloisons transversales.

Absence de cavitation. Nous savons que dans cette condition, hormis les tourbillons faibles toujours présents, il ne se produit pas d'action immédiatement visible. Après une dizaine de minutes de traitement des déformations et déplacements du chloroplaste et du noyau se manifestent. L'observation de ces altérations aux trois fréquences, durant 20 minutes d'irradiation, met en évidence une différence d'action qui se traduit par le degré d'altération finalement atteint.

à 350 Kc contraction du chloroplaste et déplacement du noyau.

à 1000 Kc contraction et renflement du plaste et des grains d'amidon, déplacement et renflement du noyau.

à 3000 Kc fragmentation et dégradation du plaste en parties sphériques, coagulation du cytoplasme, aspect granuleux du noyau.

Ces observations font apparaître qu en l absence de cavitation l ordre d efficacité des fréquences est inversé par rapport à la classification précédente la fréquence élevée de 3000 Kc devient prédominante.

Effets thermiques

Parmi ces perturbations les renflements et en particulier l apparition de coagulation à la fréquence élevée font penser à un effet de température (il est connu qu à même intensité l échauffement par absorption croit avec la fréquence) Dans le cas présent un tel effet est pourtant inattendu étant donné que la température de la cuve de traitement est maintenue constante à 20° à 3 degrés près durant les expériences.

Cette condition expérimentale n est certainement pas suffisante pour exclure l action d un effet thermique d'une part le contenu cellulaire est un milieu d absorption très différent de celui de l eau d autre part nous ne mesurons pas la température de la cellule mais celle du milieu ambiant Il ne nous est pas possible de limiter tout échauffement par absorption et par friction durant l irradiation mais nous avons la possibilité de l augmenter en supprimant la réfrigération de l eau de la cuve de traitement Si la différence d action entre 350 et 3000 Kc est due à l effet thermique nous pouvons activer l action de la fréquence basse par élévation de la température durant le traitement.

L expérience consiste à traiter à 350 Kc un filament de *Spirogyra* et à observer le comportement du chloroplaste d'une cellule. A la température de 20°, nous assistons à la contraction progressive du plaste vers une extrémité de la cellule. Vers 26°, le dessin crénelé du plaste s estompe, le ruban s élargit peu à peu, les grains d amidon grossissent. A 30° le renflement devient irrégulier la fragmentation commence les parties isolées prennent la forme sphérique Vers 34° la coagulation du cytoplasme se produit spontanément ceci se reconnaît facilement par l arrêt immédiat du tourbillon faible lo

calisé au voisinage de la cloison transversale. L'effet final ainsi produit est absolument comparable à celui obtenu à la suite d'un traitement à 3000 Kc. Le résultat de cette expérience nous paraît très favorable à l'interprétation d'une action prédominante des fréquences élevées par effet thermique. L'inversion de l'ordre d'efficacité des fréquences, constaté selon la présence ou l'absence de cavitation, est due à un effet thermique.

2) FEUILLES D'*ELODEA*.

Cavitation Ces feuilles, traitées aux deux fréquences extrêmes de 350 et 3000 Kc, ne présentent apparemment pas de différence de comportement. Dans les deux cas, les plages de cellules détruites après quelques minutes de traitement sont nombreuses et réparties à peu près uniformément à la surface de la feuille.

Contrairement à ce que nous avons observé sur *Spirogyra*, le stade émulsion et les déchirures de membranes se produisent à la fréquence élevée comme à la fréquence basse. Une classification des fréquences, comme celle établie précédemment, n'est pas possible.

Absence de cavitation Une différence d'action apparaît entre les deux fréquences, non par leur degré de destruction, mais par une localisation des effets produits. Quelle que soit la fréquence, les cellules perturbées sont très nombreuses, tourbillons intenses, émulsions et déchirures ont lieu.

A 3000 Kc ce sont surtout les cellules entourant de part et d'autre la région de la nervure qui sont détruites (Fig. 12), à 350 Kc cet effet se manifeste dans les cellules situées le long des bords du limbe (Fig. 13). Cette localisation ne s'observe pas sur toutes les feuilles examinées : sur des feuilles jeunes, prélevées à l'extrémité d'un rameau d'*Elodea*, nous ne l'avons jamais observé; sur des feuilles âgées, provenant de la base d'une tige, cet effet se manifeste souvent. Ces effets localisés ne sont pas en relation avec la position de la feuille par rapport à la direction du faisceau ultra sonore. (PFIRSCH, 1958).

Fig. 12 - Feuille d'*Elodea* traitée à 3000 Kc en l'absence de cavitation.

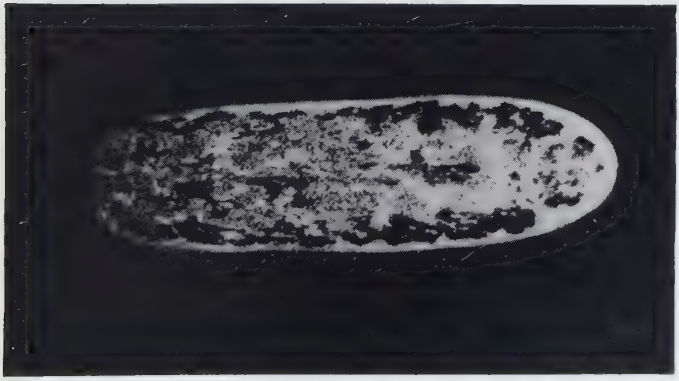

Fig. 13 - Feuille d'*Elodea* traitée à 350 Kc en l'absence de cavitation.

B - Inhibition de la cyclose dans les cellules d'*Elodea*.

En étudiant le comportement de ce test, nous avons constaté que la vibration produit une inhibition de la cyclose, fonction des variables : temps de traitement, type de tourbillon, état physiologique de la plante. Nous avons repris ces expériences en ajoutant une nouvelle variable, la fréquence, toutes les autres conditions expérimentales étant maintenues. Les premières observations ont été faites à la fréquence de 350 Kc, cette nouvelle série à la fréquence élevée de 3000 Kc.

Nous avons porté les moyennes des chiffres ainsi relevés sur deux nouveaux diagrammes. L'un (13) concerne les cellules à tourbillons intenses, l'autre (14) les cellules à tourbillons faibles. On discerne sur ces abaques les faits déjà connus de l'action stimulante exercée sur le temps d'inhibition par le temps d'irradiation et le temps de culture des plantes avant l'expérience. Si nous comparons ces deux diagrammes à ceux obtenus à la suite du traitement à 350 Kc (p. 32) nous voyons que ces faits sont indépendants de la fréquence. D'autre part il apparaît une corrélation entre le type de tourbillon et la fréquence : à 350 Kc l'inhibition est plus forte dans les cellules à tourbillons intenses, à 3000 Kc l'effet produit est contraire, l'inhibition est plus importante dans les cellules à tourbillons faibles. Cet effet d'inversion s'observe particulièrement bien dans la partie moyenne des courbes moyennes (par exemple : traitement durant 40 minutes de plantes âgées de 4 semaines).

En étudiant précédemment les altérations morphologiques de la cellule, nous avons vu que, malgré les précautions de réfrigération prises durant l'irradiation, un effet de nature thermique persiste, en particulier à la fréquence de 3000 Kc. Par les expériences qui suivent, nous cherchons à définir le rôle de ce facteur dans le test de cyclose.

Nous comparons les temps d'inhibition qui se manifestent dans les cellules à tourbillons faibles de feuilles cultivées durant 4 semaines, soumises durant 30 minutes d'une part à 350 Kc, d'autre part à 3000 Kc. Ces expériences sont faites à une température de 23°. Une autre expérience consiste à traiter des feuilles à une température de 32°. Ceci est réalisé de la

façon suivante : une petite résistance chauffante est immergée dans la cuve de traitement et commandée par un thermomètre à contact, le mouvement de brassage de l'eau de la cuve se produit par le passage des ultra-sons et une bonne homogénéité thermique du bain est ainsi assurée. Les résultats obtenus, chaque expérience étant renouvelée dix fois, figurent sur ce tableau :

	Durée d'inhibition en minutes										moyennes
350 Kc 23°	2,1	2,0	2,2	2,0	1,8	2,0	1,9	1,7	2,3	2,1	2,0
350 Kc 32°	1,9	2,5	2,2	2,8	2,6	1,9	2,4	2,1	2,4	2,3	2,3
3000 Kc 23°	7,0	6,9	8,2	6,8	6,0	8,0	7,1	7,0	7,2	8,1	7,2

Les valeurs moyennes relevées à 23° aux fréquences de 359 et 3000 Kc confirment les résultats précédemment obtenus. La moyenne de 2,3 relevée à la suite d'un traitement à 350 Kc à 32° n'est pas significativement distincte de celle relevée dans les mêmes conditions à 23° (2,0).

Nous n'avons donc pas réussi à modifier l'ordre d'efficacité des fréquences par des variations de température. Dans un test précédent (perturbations morphologiques produites dans les cellules de *Spirogyra*) nous avons montré que l'élévation de température permet de réaliser sous 350 Kc sans cavitation les effets qui prédominent sous 3000 Kc sans cavitation; dans le cas présent on n'est pas autorisé à attribuer à la température l'action de 3000 Kc sur les cellules à tourbillons faibles, puisque l'élévation artificielle de température ne change rien à l'effet de 350 Kc sur les cellules à tourbillons faibles.

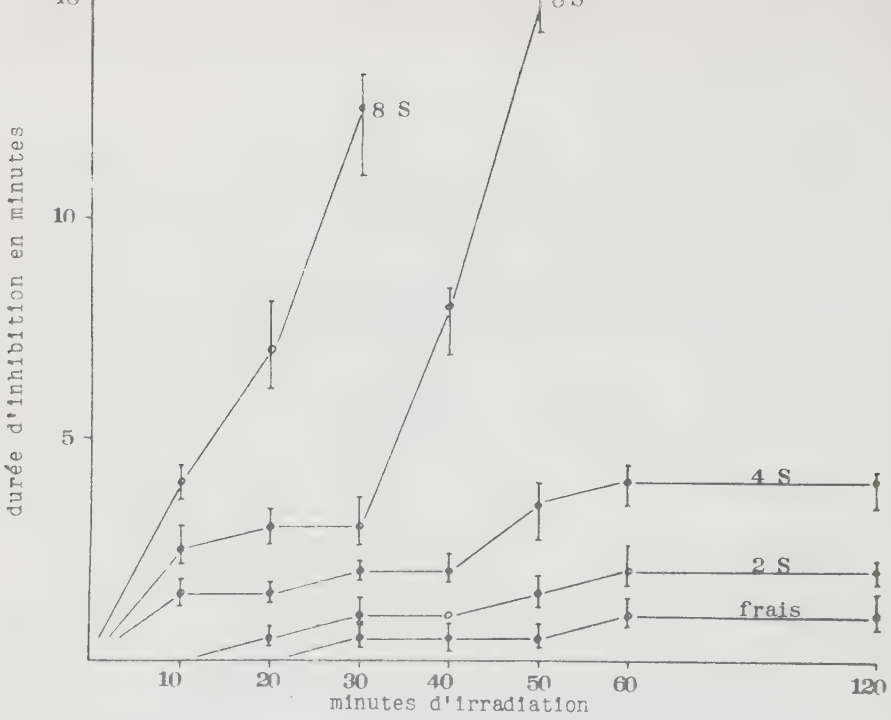

Diagramme 13 - Inhibition de la cyclose dans les cellules d'*Elodea*. 3000 Kc, tourbillons intenses.

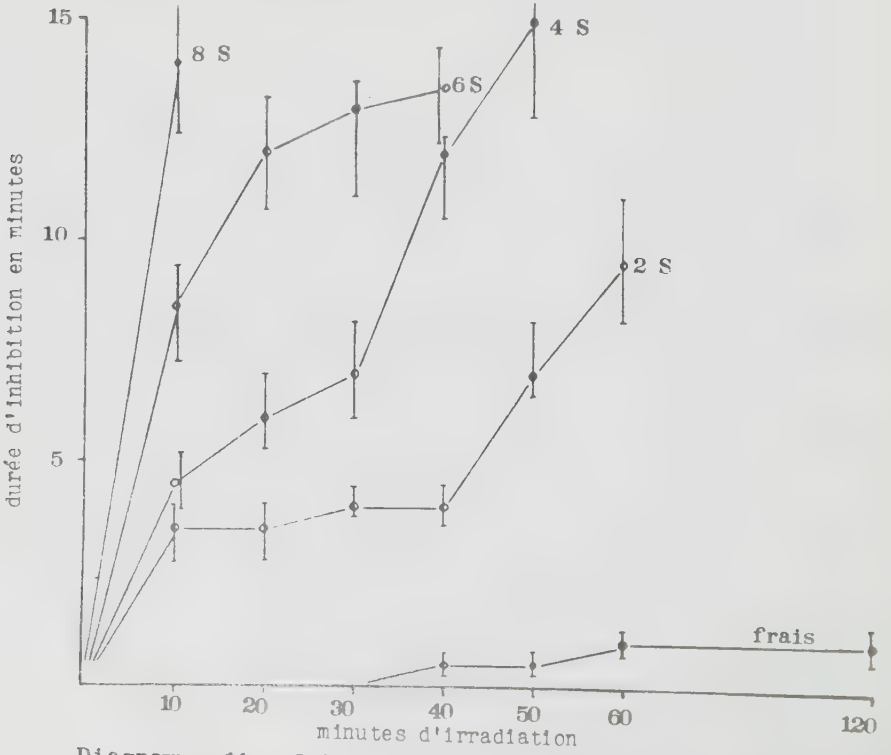

Diagramme 14 - Inhibition de la cyclose dans les cellules d'*Elodea*. 3000 Kc, tourbillons faibles.

Inhibition de la cyclose dans les cellules de feuilles d'*Elodea*

Fréquence U.S. : 3000 Kc. Durée d'inhibition exprimée en minutes

1) *Cellules à tourbillons intenses*

Durée de la culture des plantes	Durée de traitement aux U.S. en minutes						
	10	20	30	40	50	60	120
			0,4	0,5	0,4	1,1	1,0
			0,5	0,6	0,5	1,4	1,5
			0,4	0,8	0,6	0,8	1,0
			0,3	0,5	0,6	0,9	0,9
			0.6	0.6	0.3	1.0	0,8
fraîches	0	0	0,8	0,4	0,4	1,1	1,2
			0,5	0,2	0,4	0,9	0,8
			0,6	0,2	0,4	0,9	0,8
			0,4	0,6	0,4	1,0	0,7
			0,5	0,5	0,5	1,1	1,1
moyennes			0,5	0,5	0,5	1,0	1,0
		0,5	0,9	1,0	1,7	2,1	2,0
		0,4	0,9	0,6	1,6	2,0	2,1
		0,5	1,4	1,0	1,2	2,2	2,0
		0,5	1,0	1,4	1,9	1,9	2,2
		0,6	1,2	1,2	1,3	2,1	1,8
2 semaines	0	0,5	1,0	1,0	1,6	1,7	2,0
		0,4	1,4	1,0	1,5	1,9	1,7
		0,7	1,2	0,9	1,7	2,0	2,0
		0,4	1,0	1,4	1,4	2,6	1,9
		0,5	1,1	1,0	1,5	2,1	2,2
moyennes		0,5	1,0	1,0	1,5	2,0	2,0
	1,5	1,7	1,9	1,8	3,8	4,0	3,8
	1,7	1,3	1,8	1,9	3,6	3,5	3,9
	1,5	1,5	2,0	2,0	2,9	4,0	4,2
	1,5	1,6	1,9	2,0	3,2	4,3	4,0
	1,3	1,4	2,2	1,9	2,7	3,9	4,1
4 semaines	1,8	1,5	1,9	2,4	3,0	3,8	3,4
	1,5	1,7	2,1	2,0	3,7	4,4	3,6
	1,3	1,6	2,0	2,2	4,0	4,0	3,9
	1,2	1,3	2,2	2,1	2,9	4,1	3,8
	1,6	1,5	2,0	2,0	3,7	4,2	3,4
moyennes	1,5	1,5	2,0	2,0	3,5	4,0	4,0
	2,2	3,0	2,9	7,4	15,5		
	2,5	3,2	2,8	6,9	14,3		
	2,4	3,0	3,2	8,1	15,4		
	2,0	2,6	2,9	8,0	15,0		
	2,6	3,6	3,7	6,9	14,8		
6 semaines	2,5	3,2	3,2	7,2	14,6	∝	∝
	3,0	2,5	2,6	7,5	15,8		
	2,9	3,4	2,6	8,4	15,9		
	2,4	3,0	3,3	8,2	15,2		
	2,2	3,2	3,1	8,1	15,5		
moyennes	2,5	3,0	3,0	8,0	15,0		

Durée de la culture des plantes	Durée de traitement aux U.S. en minutes						
	10	20	30	40	50	60	120
8 semaines	4,1 4,2 4,0 4,4 3,8 4,0 3,6 3,9 4,1 4,0	8,1 7,0 5,9 6,4 6,7 8,0 6,1 6,3 6,9 7,2	11,0 12,4 12,8 11,1 13,2 12,6 12,4 12,5 11,9 12,0	∝	∝	∝	∝
moyennes	4,0	7,0	12,5				
	2) *Cellules à tourbillons faibles*						
Plantes fraîches	0	0	0	0,5 0,5 0,5 0,6 0,5 0,7 0,5 0,4 0,5 0,4	0,3 0,5 0,4 0,7 0,5 0,4 0,5 0,5 0,6 0,5	1,0 1,1 1,0 1,1 0,9 0,9 1,0 1,2 1,0 0,9	0,9 1,4 0,7 0,6 1,1 0,9 0,9 1,4 1,1 1,0
moyennes				0,5	0,5	1,0	1,0
2 semaines	3,8 3,6 2,9 3,2 2,7 3,0 3,7 3,9 4,0 3,7	3,6 3,4 3,3 2,9 3,9 2,8 4,0 3,7 3,6 3,5	4,0 4,0 4,2 4,1 4,0 3,9 4,1 4,1 4,0 4,4	4,1 3,6 3,9 4,5 4,3 3,9 4,2 4,0 4,0 4,1	6,7 6,9 6,5 8,2 7,0 6,9 7,1 7,3 4,8 6,5	10,0 10,5 8,2 8,5 9,1 10,0 8,1 10,5 10,0 11,0	∝
moyennes	3,5	3,5	4,0	4,0	7,0	9,5	
4 semaines	4,2 4,8 4,5 4,3 5,2 4,0 5,3 3,9 4,0 4,2	6,2 6,1 7,0 5,9 6,1 5,4 6,2 6,0 5,3 6,0	7,0 6,9 8,2 6,8 6,0 8,0 7,1 7,0 7,2 8,1	12,1 12,9 10,5 12,4 12,0 12,4 12,2 11,0 11,2 11,1	12,9 13,2 15,0 17,2 15,4 15,8 12,0 16,9 15,2 16,0	∝	∝
moyennes	4,5	6,0	7,0	12,0	15,0		
6 semaines moyennes	8,5	12,0	13,0	13,5	∞	∝	∝
8 semaines moyennes	14,0	∞	∞	∝	∝	∞	∝

C - La réduction du nitrate d'argent par la cellule.

Nous avons observé, dans les cellules foliaires d'*Elodea* et de *Mnium*, traitées à la fréquence de 1000 Kc, une inhibition partielle du pouvoir réducteur, plus ou moins marquée selon la présence ou l'absence de cavitation. Par les expériences qui suivent nous étudions le rôle des fréquences de 350 et 3000 Kc, d'une part en présence et d'autre part en l'absence de cavitation.

Traitement de feuilles d'Elodea :

Des feuilles sont traitées, durant 5 minutes, en présence de cavitation. Dans une série d'expériences nous opérons à 350 Kc, dans une autre série à 3000 Kc. Les valeurs ainsi relevées (moyennes de 6 expériences) ainsi que les écarts extrêmes de ces moyennes, sont représentées sur le diagramme 15. Sur ce même diagramme nous avons également reporté les résultats obtenus précédemment à la fréquence de 1000 Kc. Ces courbes font apparaître que les quantités de nitrate d'argent réduit ne varient plus de façon appréciable après une durée de réduction de l'ordre de 40 minutes. Si nous comparons les points situés entre les temps 40 et 60 minutes à la courbe des témoins, nous constatons qu'une inhibition du pouvoir réducteur se manifeste pour chaque fréquence. D'autre part il apparaît que l'inhibition est d'autant plus importante que la fréquence est plus basse. L'analyse statistique des valeurs relevées, d'une part en comparant les fréquences de 350 et 1000 Kc, d'autre part en comparant celles de 1000 et 3000 Kc, justifie la classification de ces fréquences (ces valeurs sont significativement distinctes au seuil de probabilité de 99 %).

Nous reprenons ces expériences en supprimant la cavitation par dégazage de l'eau. Tous les résultats obtenus sont représentés sur le diagramme 16. En nous appuyant sur l'analyse statistique nous pouvons affirmer que le traitement, en l'absence de cavitation, aux fréquences de 350, 1000 et 3000 Kc, entraîne pour chaque fréquence une inhibition du pouvoir réducteur. Une classification de ces fréquences selon leur efficacité est possible : l'inhibition est la plus importante à 3000 Kc, la moins importante à 350 Kc. Les valeurs relevées à 1000 Kc se situent entre les deux autres fréquences, elles sont significativement distinctes de celles obtenues à 350 Kc, mais ne diffèrent pas

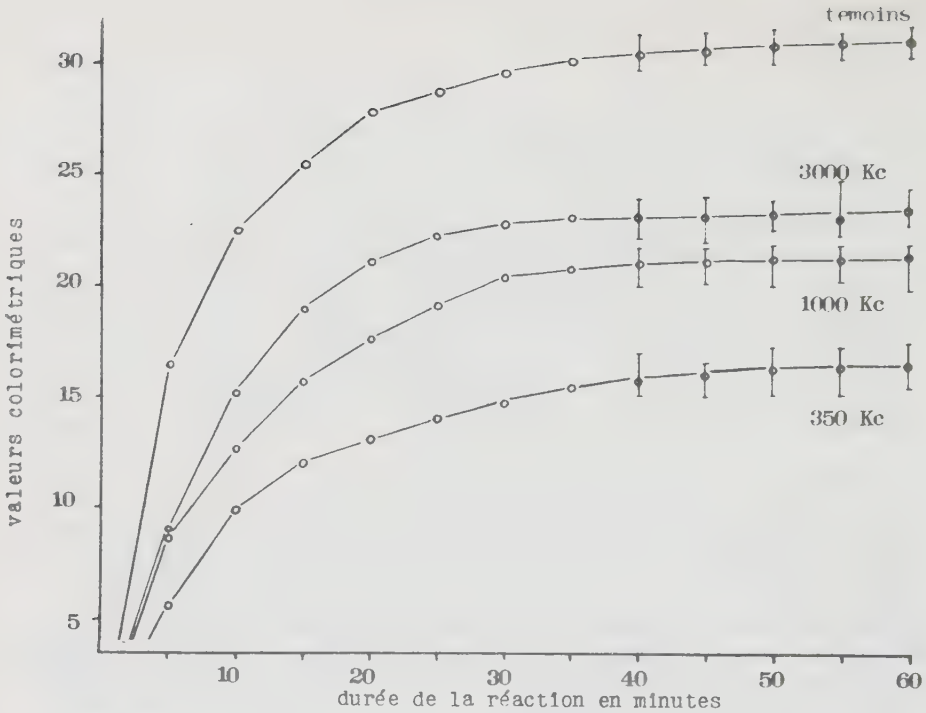

Diagramme 15 - Inhibition de la réduction du nitrate d'argent dans les cellules d'*Elodea*. Présence de cavitation.

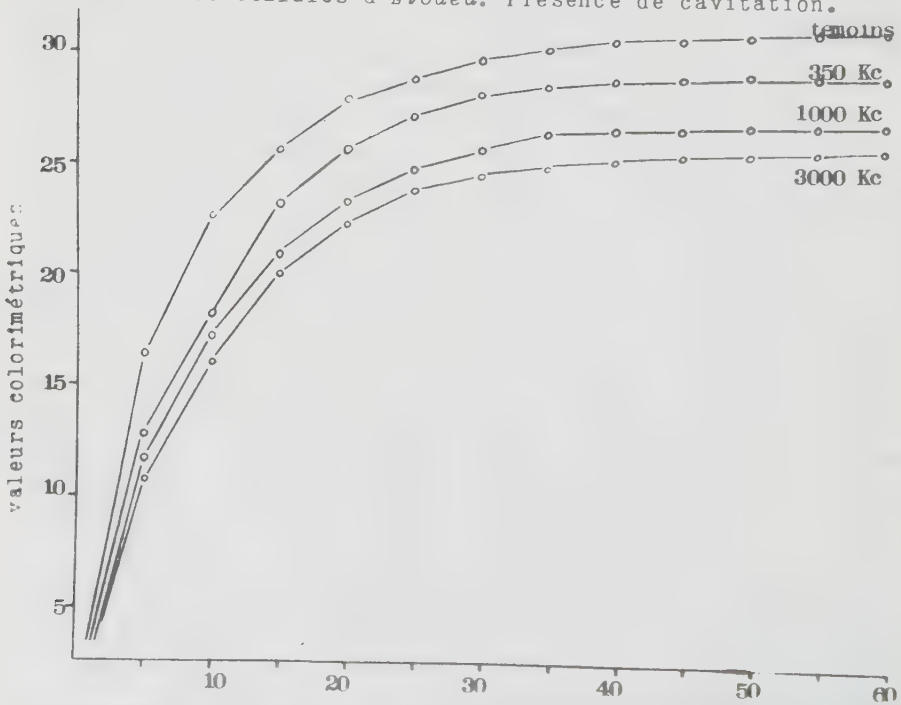

Diagramme 16 - Inhibition de la réduction du nitrate d'argent dans les cellules d'*Elodea*. Absence de cavitation.

significativement de celles relevées à 3000 Kc. Ceci nous permet de conclure que les fréquences relativement élevées de 1000 et 3000 Kc sont plus efficaces que la fréquence relativement basse de 350 Kc.

Ces différentes expériences concernant les cellules foliaires d'*Elodea* mettent donc en évidence une inversion de l'ordre d'efficacité des fréquences : la fréquence basse domine en cas de cavitation, les fréquences élevées dominent en l'absence de cavitation.

Traitement de feuilles de Mnium :

Nous traitons aux trois fréquences, en présence de cavitation, durant 5 minutes, des feuilles de *Mnium*. Les valeurs relevées au cours de ces expériences figurent sur le diagramme 17. La comparaison de ce diagramme avec celui obtenu en traitant dans les mêmes conditions des feuilles d'*Elodea* (diagramme 15) met en évidence que les conclusions précédemment formulées s'appliquent également à ces résultats concernant *Mnium* : en cas de cavitation les fréquences se classent, selon leur efficacité croissante, de la fréquence la plus élevée à la fréquence la plus basse.

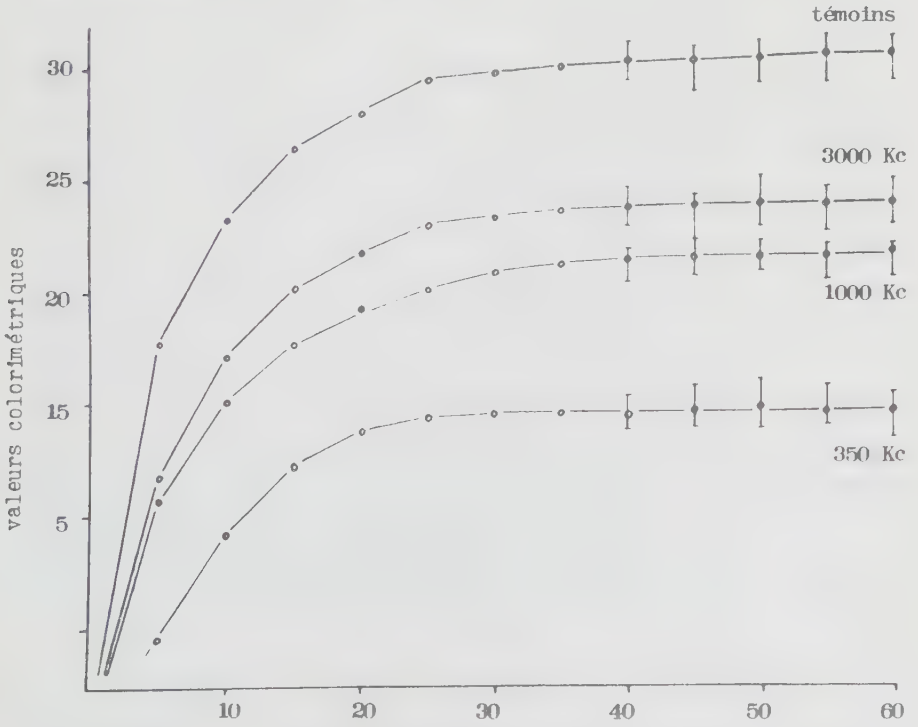

Diagramme 17 - Inhibition de la réduction du nitrate d'argent dans les cellules de *Mnium*. Présence de cavitation.

En traitant des feuilles de *Mnium* en l absence de cavitation nous n observons pas d inhibition du pouvoir réducteur quelle que soit la fréquence utilisée.

Nous étudierons ultérieurement par l analyse du rôle des phases gazeuses préformées la cause de cette absence d action ainsi que la cause de l effet d inversion des fréquences dans le cas d *Elodea*

Chiffres relevés au cours des expériences sur l'inhibition du pouvoir réducteur des cellules foliaires d'*Elodea* et de *Mnium*

Traitement de 5 minutes

1) *Feuilles d'Elodea*

	Durée de la réaction en minutes											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
350 Kc cavitation	4,9	9,2	11,0	12,4	14,4	14,6	14,8	16,1	15,0	16,0	15,1	16,1
	6,8	10,6	11,8	14,3	14,1	15,6	16,4	15,0	16,6	15,1	17,3	17,1
	6,6	10,1	13,4	12,3	14,7	14,0	15,1	17,0	16,0	17,3	15,6	15,4
	4,8	11,0	13,2	12,7	13,2	14,1	16,1	15,6	16,4	16,0	17,1	16,0
	6,4	9,1	11,0	12,7	14,6	15,8	14,9	15,4	15,8	15,6	16,0	15,8
	5,2	9,4	11,6	14,1	13,0	14,0	16,1	15,0	16,2	17,1	16,0	17,4
moyennes	5,8	9,9	12,0	13,1	14,0	14,7	15,4	15,7	16,0	16,2	16,3	16,4
350 Kc absence de cavitation	11,8	18,6	23,6	25,8	26,2	28,8	28,2	27,5	29,0	29,2	28,5	29,5
	13,0	19,1	22,8	24,6	27,8	28,2	27,0	28,4	28,8	28,6	29,5	29,2
	13,0	19,4	22,4	25,8	26,6	27,4	28,8	29,7	29,6	29,4	29,4	28,2
	12,0	20,2	23,8	26,4	27,6	27,8	29,6	28,8	29,5	28,4	28,6	29,0
	13,4	18,8	23,3	26,0	27,5	28,0	29,0	29,6	28,3	29,6	28,8	28,4
	13,5	19,2	23,6	26,0	27,8	28,4	29,0	28,8	28,2	29,4	29,2	28,8
moyennes	12,7	19,2	23,2	25,7	27,2	28,1	28,6	28,8	28,9	29,1	29,0	28,9
3000 Kc cavitation	9,6	15,7	17,9	20,6	21,5	23,4	22,1	22,2	23,4	22,6	22,5	23,2
	8,4	14,3	19,6	22,0	23,0	22,6	24,3	24,0	22,0	23,3	24,8	23,0
	9,9	15,0	19,8	22,2	22,1	23,6	23,5	23,2	24,1	23,9	22,3	22,8
	9,4	14,8	17,9	20,3	22,6	22,3	22,5	22,7	22,3	23,7	22,7	24,4
	8,2	15,9	19,5	20,4	21,7	21,4	24,0	23,6	23,8	23,0	22,7	22,7
	8,8	14,9	19,3	21,0	22,9	23,5	22,3	23,0	23,0	22,7	22,9	24,4
moyennes	9,0	15,1	19,0	21,1	22,3	22,8	23,1	23,1	23,1	23,2	23,0	23,4
3000 Kc absence de cavitation	10,4	14,3	19,1	21,1	23,2	23,1	24,2	24,0	24,6	25,0	25,1	26,4
	10,5	16,9	21,4	23,0	24,2	25,4	26,0	26,0	26,2	25,4	25,7	25,7
	10,0	14,9	19,0	23,1	24,9	24,5	24,4	26,2	25,0	26,3	26,1	26,1
	9,8	14,6	20,2	22,7	23,6	23,9	24,6	24,9	25,8	25,3	25,3	25,0
	11,9	14,4	21,5	21,8	24,4	25,0	23,7	24,1	24,8	25,7	25,0	24,8
	11,6	14,9	18,9	22,1	23,1	25,0	26,0	25,9	26,0	25,3	26,4	26,3
moyennes	10,7	15,0	20,0	22,3	23,9	24,5	24,9	25,2	25,4	25,5	25,6	25,7

2) *Feuilles de Mnium*

	Durée de la réaction en minutes											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
350 Kc cavitation	3.2	10.2	12,2	13,1	12,9	13,7	15,0	15,4	13,9	13,8	14,4	13,4
	3 5	7 9	10.4	13 8	13 3	13 8	13 8	13 8	15 8	14 0	14 0	13 8
	6 1	10 0	12 5	14 0	14 1	15 5	15 0	13,9	13,9	16 1	14 5	15 5
	3 6	11 0	12 0	14 1	13,6	14 1	14 5	15 2	14 3	15 0	14 1	13,7
	5 8	7 4	10 9	13 4	13 0	15 2	15 3	14,0	14 8	14 6	15 9	15, 1
	4 9	7 5	11 0	13 2	14 5	14,0	13 4	14 1	15 0	15 3	14 0	15 5
moyennes	4 5	9 0	11 5	13 5	13 6	14 4	14 5	14 4	14 6	14 8	14 5	14 5
3000 Kc cavitation	10 5	16 4	20 6	20 7	22 9	23 5	22 5	23 5	22 4	23 6	22 9	23 1
	12 9	17 6	19 0	22 0	21 9	22 6	24 6	24 2	24 5	24 2	24 9	24 0
	12 1	16 8	21 2	22 4	24 0	24 2	23 9	23 0	23 7	23 4	24 2	24 0
	9 4	17 4	20 0	21 0	23 2	22 8	24 0	23 7	24 5	23 0	23 4	25 2
	12 7	17 8	19 5	22 4	22 5	22 6	23 7	23 0	24 3	25 3	24 5	24 5
	11,5	16,0	19 8	21,7	23,5	24,0	22,9	24,8	23,9	24,6	24 1	23,1
moyennes	11 5	17 0	20 0	21,7	23 0	23 3	23 6	23 7	23 9	24 0	24 0	24 0

3) LE RÔLE DES PHASES GAZEUSES PREFORMEES.

Nous avons vu au cours des multiples observations et expériences précédentes que la cavitation joue un rôle essentiel dans l'action des ultra-sons, par l'intermédiaire de phases gazeuses libérées, à la suite des variations de pression, sous forme de bulles. Certaines observations, en particulier celles qui concernent les altérations cellulaires directement visibles au microscope, nous font supposer que la présence d'une phase gazeuse, autre que celle liée à la cavitation, pourrait également intervenir. Dans la présente partie nous examinons le comportement des divers tests en tenant compte de ce facteur.

a) Les perturbations cellulaires.

Spirogyra : En décrivant les effets des ultra-sons qui se produisent en présence de cavitation, nous avons analysé les modalités d'action des bulles gazeuses et distingué trois variantes : une bulle de cavitation peut, après sa naissance, soit augmenter de volume et disparaître en surface, soit diminuer de volume et de résorber, soit atteindre une certaine dimension et ne changer ni de volume ni de position durant l'irradiation. Si une telle bulle stable se fixe contre la membrane d'une cellule de *Spirogyra*, elle y produit des tourbillons intenses tant que dure la vibration. Dans certains cas, l'arrêt de la vibration n'entraîne pas sa disparition et, au moment de la remise en marche du générateur d'ultra-sons, cette même bulle reprend la même activité. A ce moment cette bulle n'est donc plus une bulle de cavitation au sens strict, on peut la remplacer par une bulle apportée, l'effet qu'elle produit est pourtant comparable à celui d'une vraie bulle de cavitation.

Cette observation nous conduit à appeler cette variante de bulle *phase gazeuse préformée*. L'étude systématique des divers types de tourbillons qui se manifestent dans la cellule, en fonction de la nature des phases gazeuses, se révèle difficile en raison de la structure cellulaire hétérogène et du fait qu'il n'est pas possible de faire varier suffisamment les caractères de la cellule : dimension, contenu, membrane.

Dans les expériences qui suivent, nous avons remplacé la cellule végétale par un modèle artificiel, de structure très simple, en vue d'une interprétation par analogie de certains effets propres à ces vibrations.

Expériences sur modèles artificiels.

Ces modèles sont constitués par des tubes en collodion, à membrane très mince, remplis d'eau et fermés aux deux extrémités. Les tubes sont réalisés par moulage sur la paroi interne d'un capillaire en verre. Leur diamètre peut varier à volonté, le minimum obtenu est de l'ordre de 0,2 mm. Afin de rendre apparents les mouvements susceptibles de se produire dans ces tubes, lorsqu'ils sont soumis à l'irradiation, nous ajoutons à l'eau qu'ils renferment des particules solides de petite dimension. Ce sont soit des cellules de levure, soit des hématies, soit des grains d'amidon. Pour les observations, un tel tube est disposé dans la cuve de traitement de la même façon qu'un filament de *Spirogyra*.

Dans un tel modèle, nous distinguons, durant l'irradiation deux sortes de mouvements tourbillonnaires (PFIRSCH, 1952). Un premier type est produit par des bulles gazeuses, de diamètre très variable, qui en se collant sur la paroi du tube provoquent dans la suspension un mouvement rapide, d'apparence circulaire ou elliptique, tangentiel à la face interne de la membrane de collodion, au point de contact extérieur de la bulle. Ce mouvement a un maximum d'intensité très prononcé au voisinage de la bulle, son amplitude se situe entre 0,1 et 0,5 mm. En raison de l'instabilité de la plupart de ces bulles ces mouvements sont brefs, changent de place ou cessent avec le déplacement ou la disparition de la bulle.

Un deuxième type de mouvement, plus rare, est produit par la présence de bulles gazeuses qui restent en place lorsqu'elles sont fixées à la membrane. L'orientation perpendiculaire du tube par rapport au faisceau d'ultra-sons facilite cette condition. Le tourbillon intense auquel on s'attend ne se produit pas, les particules de la suspension se groupent en cercles concentriques, équidistants, dont le centre est la bulle. En chaque point de ces cercles les particules tournent autour de la tangente au cercle en ce point, le sens de rotation est variable dans les divers anneaux. L'intensité de ces rotations décroît régulièrement en fonction de la distance entre anneau de particules et bulle. Cette disposition des particules ne se produit qu'au contact de la face interne de la membrane de collodion.

L'ensemble d'une telle figure se présente sous forme d'un système d'ondes stationnaires (Fig. 14), la distance entre deux anneaux consécutifs correspondant à une demi longueur d'onde.

Fig. 14 - Système périodique engendré par une bulle de cavitation.

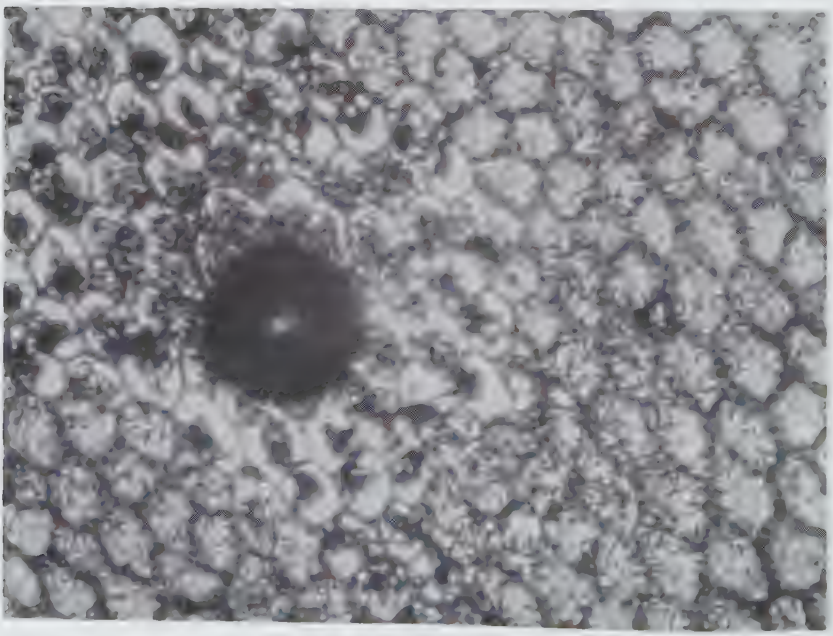

Fig. 15 - *Mnium*, cellules détruites au voisinage d'une bulle apportée.

La valeur moyenne de cet espacement est de 0,06 mm avec une variation de plus ou moins 0,01 mm. Ce chiffre reste constant pour les fréquences de 350, 1000 et 3000 Kc, ne varie pas avec la dimension de la bulle gazeuse qui l'engendre, ne dépend ni du diamètre du tube de collodion, ni de la nature des particules solides. Si la bulle gazeuse qui produit un tel système reste en place après arrêt de l'irradiation, elle redevient active dans le même sens dès la remise en marche du générateur d'ultra-sons.

Quelle que soit la nature de ce phénomène, il met en évidence une action de bulle à une distance relativement grande. Dans le cas d'un tourbillon intense nous avons vu que le rayon d'action de la bulle est de l'ordre de 0,05 mm, dans le cas de ces systèmes périodiques ce rayon peut atteindre 2 mm. A cette distance les cercles de particules sont encore animés du mouvement toroïdal. En dehors de ces deux types de tourbillons nous n'avons observé aucun tourbillon faible indépendant de la présence d'une bulle.

Si la comparaison des actions observées d'une part sur des Spirogyres, d'autre part sur modèle artificiel ne nous permet pas une interprétation sûre des divers types de perturbations, certaines analogies sont pourtant frappantes. Les tourbillons intenses, liés à des bulles gazeuses sont identiques dans les deux cas, hormis leur amplitude qui est beaucoup plus grande dans le cas des tubes en collodion. Dans une cellule de Spirogyre ce sont donc apparemment les membranes qui limitent l'étendue des perturbations et en particulier les cloisons transversales qui bloquent toute transmission d'énergie aux cellules voisines.

Les tourbillons moyens, décrits sur des cellules de Spirogyres, détachant et entraînant de petits fragments de chloroplaste, qui sont en relation avec des bulles gazeuses fixées à distance, présentent une certaine ressemblance avec les systèmes périodiques à fréquence élevée observés sur les modèles : action à distance de la bulle en plusieurs points équidistants sur un axe, représenté dans le cas d'une Spirogyre par la direction du filament. Par contre la valeur des écartements entre anneaux d'un système périodique et la valeur des distances qui séparent les cellules perturbées d'un filament de Spirogyre ne sont pas les mêmes (0,06 mm d'une part et 0,18 mm d'autre part).

Le problème reste entier en ce qui concerne les tourbillons faibles, réguliers et indépendants des phases gazeuses, observés dans toutes les cellules d'un filament de Spirogyre au niveau des cloisons transversales. Ce type de mouvement fait défaut dans les modèles artificiels.

Feuilles de *Mnium*.

Nous avons signalé précédemment la formation, en l'absence de cavitation, de tourbillons intenses dans certaines cellules d'une feuille de *Mnium*. Ces cellules sont toujours celles qui entourent l'emplacement d'une cellule morte. Dans une feuille intacte, ces perturbations ne se produisent pas, d'autre part la présence d'une cellule morte n'implique pas nécessairement la formation de tourbillons dans les cellules voisines.

Supposant que de telles perturbations sont liées à la présence d'une phase gazeuse qui se substitue au contenu de la cellule morte, nous avons procédé à des essais de dégazage des feuilles. Une feuille présentant le type d'altérations cité est retirée de la cuve de traitement et soumise, dans de l'eau dégazée, au vide d'une trompe à eau. Après quelques minutes de séjour dans ces conditions, et retour à la pression normale en restant immergée, elle est à nouveau introduite dans la cuve de traitement et soumise à la vibration. Aucun tourbillon ne se produit dans les cellules précédemment perturbées.

Cette expérience, renouvelée de nombreuses fois sur d'autres feuilles de *Mnium*, aboutit toujours au même résultat. Ce résultat paraît favorable à l'hypothèse formulée de la présence d'une phase gazeuse active dans certaines cellules mortes.

Une autre expérience démontre l'action d'une bulle préformée : une feuille de *Mnium* est montée entre lame et lamelle, dans une goutte d'eau, de façon telle qu'une petite bulle gazeuse se trouve incluse et disposée au contact de la feuille. Cet ensemble est introduit dans la cuve de traitement et observé durant l'irradiation. Toutes les cellules qui se trouvent au voisinage de la bulle présentent des tourbillons intenses (Fig. 15). Ceci nous donne la certitude d'une action intense, comparable à celle d'une bulle de cavitation, produite par l'intermédiaire d'une phase gazeuse préformée.

Feuilles d'*Elodea*

Nous savons qu'en l absence de cavitation, de nombreuses cellules de telles feuilles sont soumises durant leur traitement à des tourbillons intenses ou faibles. La répartition de ces cellules dans la feuille en plages alignées parallèlement à la nervure fait penser à un rapport avec les lacunes aérifères dont la disposition est similaire. Nous soumettons des feuilles d *Elodea* avant leur traitement aux ultra-sons, à un dégazage par le vide en utilisant la même technique que nous avons appliquée à des feuilles de *Mnium* Les cellules de feuilles ainsi traitées révèlent, au cours de l'irradiation, des perturbations bien moins importantes qu'avant leur dégazage. Nous distinguons encore des cellules à tourbillons intenses d autres à tourbillons faibles mais les plages de cellules perturbées sont bien moins étendues. Cette expérience apporte encore un argument favorable à la conclusion précédente formulée à la suite des expériences faites sur *Mnium*

De l ensemble des observations précédentes nous concluons qu en ce qui concerne une action mécanique, la phase gazeuse préformée peut etre aussi active que la bulle de cavitation. Le cas de la bulle de cavitation stable qui reste en place et maintient son activité après une interruption de l irradiation marque la transition entre l action de la vraie bulle de cavitation et celle de la phase gazeuse préformée.

L'EFFET D'ECRAN DE LA CAVITATION

Si, au cours de l'irradiation d'une feuille d'*Elodea*, les deux types de phases gazeuses bulles de cavitation et méats sont présents on doit s attendre à observer des lésions particulièrement importantes étant donné que chaque composante est active. Les expériences suivantes montrent qu il n en est pas nécessairement ainsi.

Nous réalisons trois petites cuves constituées chacune d un cylindre en verre (5 cm de diamètre et 3 cm de haut) dont les extrémités sont hermétiquement fermées par une mince feuille de cellophane tendue et maintenue en place par une bague en caoutchouc. Le cylindre en verre comporte latéralement une ouverture fermée par un bouchon en caoutchouc. L une de ces cuves est remplie d eau soigneusement dégazée (par vide et ultra sons)

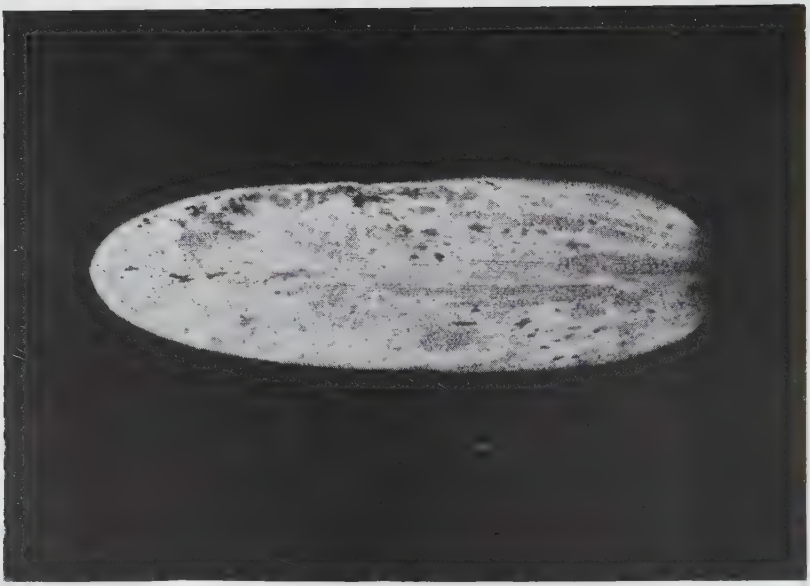

Fig. 16 a - Feuille d'*Elodea* traitée en eau dégazée avec interposition d'une couche d'eau en cavitation.

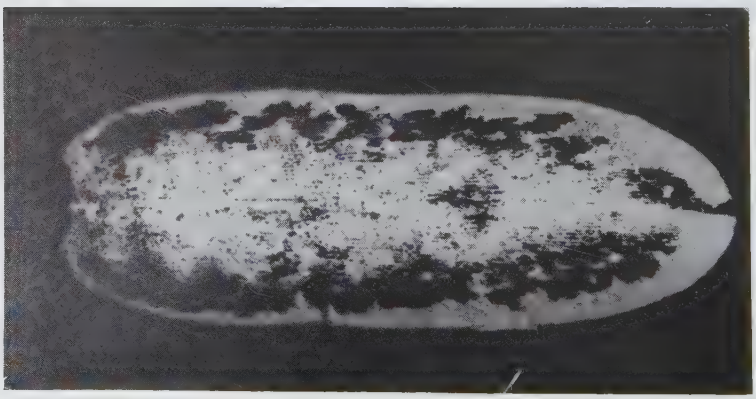

Fig. 16 b - Interposition d'une couche d'eau sans cavitation.

Fig. 17 a - Feuille d'*Elodea* traitée en eau non dégazée avec interposition d'une couche d'eau en cavitation.

Fig. 17 b - Interposition d'une couche d'eau sans cavitation.

et nous disposons, à peu près en son milieu, une feuille d'*Elodea* maintenue en place par une griffe en fil fin d'acier. Les deux autres cuves sont remplies l une d'eau dégazée, l'autre d'eau non dégazée. Nous disposons sur le quartz (350 Kc) la cuve contenant l'eau non dégazée et par dessus la cuve renfermant la feuille d'*Elodea*. Le contact entre les deux cuves et entre le quartz est assuré par une mince lame d'eau. Cet ensemble est traité aux ultra-sons durant une minute.

La deuxième expérience consiste à traiter durant le même temps, une nouvelle feuille d'*Elodea* en interposant entre son récipient et le quartz la cuve pleine d'eau dégazée. Si nous comparons les deux feuilles après leur traitement (Fig. 16 a et b) nous constatons que les lésions de la feuille irradiée avec interposition d'une épaisseur d eau en cavitation sont nettement moins importantes que celles subies dans le cas de l'interposition d une eau dégazée ne présentant pas de cavitation. Nous reconnaissons de façon particulièrement nette sur la feuille traitée avec interposition d une couche d eau sans cavitation, les effets localisés dans la région marginale de la feuille (voir relations entre méats et fréquences page 68). Dans les deux expériences nous avons uniquement agi sur l activité des méats.

Dans deux autres expériences nous laissons agir simultanément les méats et les bulles de cavitation au niveau de la feuille en immergeant celle ci dans de l'eau non dégazeé. Comme précédemment, nous interposons successivement, entre cette cuve et le quartz, une cuve d'eau non dégazée puis une cuve d eau dégazée. Les autres conditions expérimentales sont identiques à celles de la première série d expériences. Les résultats ainsi obtenus (Fig. 17 a et b) font apparaitre une ressemblance avec les expériences précédentes (Fig. 16). Si nous comparons les effets produits sur la feuille avec interposition d une couche d eau sans cavitation, nous constatons que dans cette expérience (Fig. 17 b) les effets localisés dans la région marginale de la feuille, liés à la présence de méats, apparaissent avec beaucoup moins de netteté que dans le cas précédent (Fig. 16 b). Il est vraisemblable que l'action des ultra sons sur les méats est diminuée par la présence d'une couche supplémentaire d'eau en cavitation, d autre part la régularité des zones de cellules détruites (régions noires sur les feuilles) semble perturbée par l action des bulles de cavitation agissant directement sur la feuille (ces bulles ne produisent pas d'actions localisées).

Nous interprétons ces résultats de la façon suivante en l'absence de cavitation les ultra-sons, avant d'atteindre la feuille, traversent une épaisseur de liquide homogène. En présence de cavitation cette homogénéité est perturbée par les nombreuses bulles gazeuses qui prennent naissance, une partie de l'énergie ultra-sonore est réfléchie et dispersée par ces phases gazeuses et de ce fait l'énergie qui atteint la feuille est moins importante que dans le cas précédent On voit donc que dans ce cas la cavitation, loin d'être indispensable à l'efficacité des ultra-sons, en diminue au contraire l'importance, c'est ce qu on peut appeler l'effet d'écran de la cavitation Cet effet d écran est d ailleurs utilisé par certains physiciens (BRIGGS, JOHNSON, MASON, 1947) pour repérer le seuil d apparition de la cavitation dans un liquide, d'après la baisse de l'effet observé au-delà de la zone susceptible d'entrer en cavitation.

b) La réduction du nitrate d'argent par les cellules.

En étudiant le rôle de la cavitation et le rôle des fréquences dans l'action des ultra-sons sur ce test nous avons constaté, dans le cas des feuilles d'*Elodea* une inhibition notable du pouvoir réducteur en l'absence de cavitation. Dans le cas des feuilles de *Mnium*, de telles inhibitions ne se manifestent pas. Par les expériences qui suivent nous cherchons à mettre en évidence que cet effet est lié, comme pour les perturbations morphologiques, à la présence de méats.

Nous vérifions en premier lieu si l'opération de dégazage des feuilles, nécessaire pour supprimer les phases gazeuses intercellulaires, ne modifie pas la réaction des cellules lors du traitement au nitrate d'argent. Nous soumettons des feuilles d'*Elodea*, immergées dans l'eau durant quelques minutes, à la dépression d'une trompe à eau. L'opération est répétée plusieurs fois (alternance de dépression et de pression normale) jusqu'au moment où n'apparaissent plus de bulles gazeuses au niveau de la section de coupure de la feuille, au moment de la dépression Ces feuilles sont ensuite exposées à la lumière, dans une cuve contenant de l'eau non dégazée durant quelques heures. A la suite de ces opérations, nous admettons que dans ces feuilles les méats gazeux sont reconstitués et nous comparons leur réaction au nitrate d'argent à celle des feuilles témoins non traitées. En répétant six fois cette expérience nous avons relevé les valeurs colorimétriques suivantes

							moyennes
Feuilles dégazées :	28	27	28	26	28	27	27,3
Feuilles non dégazées :	29	27	25	26	25	28	26,8

Ces chiffres mettent en évidence que l'opération de dégazage ne perturbe pas significativement le test étudié

Action des ultra-sons sur des feuilles dégazées

Nous traitons aux ultra-sons de 350 Kc, en l'absence de cavitation, durant 5 minutes, d'une part des feuilles intactes d autre part des feuilles dégazées Ensuite ces feuilles sont immergées dans la solution de nitrate d'argent et après une attente d'une heure nous relevons les valeurs colorimétriques Voici les résultats obtenus (6 expériences) :

							moyennes
Feuilles dégazées :	27	28	27	25	26	25	26,3
Feuilles non dégazées :	16	15	17	16	18	18	16,6

(comme dans les expériences antérieures les valeurs décroissantes traduisent une inhibition croissance de la réaction).

Ces résultats font apparaître que l'inhibition de cette réaction par les ultra-sons est étroitement liée, en l'absence de cavitation (eau dégazée), à la présence de méats (feuilles non dégazées) alors que la valeur moyenne 26,3 peut aisément être confondue avec celle des témoins (27,3), celle de 16,6 en est très éloignée.

Nous reprenons cette expérience à la fréquence de 3000 Kc, toutes les autres conditions étant comparables. Nous avons relevé les valeurs suivantes :

							moyennes
Feuilles dégazées :	22	24	20	23	25	23	22,8
Feuilles non dégazées :	9	12	12	10	11	11	10,8

Comme dans les expériences qui précèdent, les moyennes de ces deux séries d'expériences diffèrent très nettement et ceci confirme l'importance qu'il faut attribuer à la présence des méats. Il est vrai qu'ici la valeur moyenne obtenue en traitant des feuilles dégazées ne se confond plus avec la valeur moyenne des témoins (27,3), mais nous avons vu précédemment (p. 67) qu'en l'absence de cavitation, donc lorsque ce sont les méats qui interviennent, la fréquence élevée est plus active que la fréquence basse. Il est très vraisemblable que nous n'avons pas éliminé tous les méats par l'opération de dégazage et que par la suite, à la fréquence de 3000 Kc, une inhibition partielle subsiste, alors qu'elle ne se manifeste plus à la fréquence de 350 Kc.

Mode d'action des méats.

En étudiant le rôle de la fréquence nous avons constaté sur ce test, une inversion de l ordre d'efficacité des fréquences selon la présence ou l'absence de cavitation Si l'on suppose que dans la condition expérimentale absence de cavitation-présence de méats une telle phase gazeuse agit par un phénomène de résonance, on interprètera l'action prépondérante de la fréquence élevée par une éventuelle prépondérance des méats capables de résonner à 3000 Kc.

La forme des méats d'une feuille d'*Elodea* s'écartant beaucoup de formes géométriques simples, il nous paraît difficile de procéder à des calculs de résonance, mais nous pouvons agir, dans une certaine mesure, sur la dimension de ces volumes gazeux en faisant varier la pression de l'air sur le liquide du récipient durant le traitement (PFIRSCH, 1959).

Les expériences consistent à traiter des feuilles d'*Elodea* immergées dans un récipient clos hermétiquement, contenant de l'eau dégazée Cet ensemble est relié à une trompe à eau et à un manomètre. Une série d'essais préliminaires a montré qu'une pression abaissée à 10 cm de mercure n'entraîne qu'un léger dégazage des feuilles et produit l'effet recherché.

En premier lieu nous vérifions le comportement de feuilles non traitées, mais étant soumises au préalable durant 5 minutes à l'abaissement de pression de 10 cm de Hg. Voici, comparés aux feuilles témoins, les résultats de 6 expériences

							moyennes
Pression atmosphérique :	26	25	27	24	27	25	25,6
Pression de 10 cm Hg :	24	27	26	24	26	25	25,3

Selon ces résultats il apparaît que la variation de pression ne perturbe pas la réaction étudiée.

Dans les expériences qui suivent, nous introduisons les deux variables fréquence et différence de pression. Les feuilles sont soumises durant 5 minutes à l'action des ultra-sons, les conditions expérimentales réalisées et les résultats obtenus figurent sur le tableau suivant.

	Pression atmosphérique						Pression de 10 cm Hg					
350 Kc	16	15	14	16	15	16	10	10	9	11	9	10
	moyenne = 15,3						moyenne = 9,8					
3000 Kc	13	10	11	12	10	12	10	15	14	15	14	15
	moyenne = 11,3						moyenne = 14,3					

Les valeurs ainsi relevées conduisent aux conclusions suivantes

1) dans tous les cas le traitement aux ultra sons est suivi d une inhibition partielle de la réduction du nitrate d argent.

2) à la pression atmosphérique la fréquence élevée est plus active que la fréquence basse (11,3 et 15,3).

3) à la pression de 10 cm Hg la fréquence basse est plus active que la fréquence élevée.

Si les deux premières conclusions ne font que confirmer ce que nous savons déjà le troisième point fait apparaître de façon très nette un fait nouveau inversion de l'ordre d efficacité des fréquences. L hypothèse précédemment formulée paraît justifiée par ces résultats, nous admettons que soumis à la dépression le volume gazeux d'un méat augmente donc sa fréquence de résonance diminue et il s'accorde mieux à la fréquence relativement basse de 350 Kc.

Si les méats gazeux présentent une telle plasticité le phénomène doit etre réversible. Dans les expériences suivantes nous soumettons des feuilles durant 5 minutes à une pression de 10 cm Hg revenues à la pression normale elles sont immédiatement traitées, durant 5 minutes, aux deux fréquences

							moyennes
350 Kc :	14	17	18	15	18	17	16,3
3000 Kc :	12	14	13	12	13	10	12,3

Ces valeurs, comparées à celles du tableau précédent (15,3 et 11,3) ne diffèrent pas significativement de celles obtenues à la suite d'un traitement à la pression normale. L'hypothèse de réversibilité du phénomène est donc vérifiée.

c) Inhibition de la cyclose dans les cellules d'*Elodea*

Dans les expériences précédentes, concernant ce test, nous avons observé le comportement de la cyclose dans des cellules à tourbillons intenses et stables et dans des cellules à tourbillons faibles. Nous avons montré que ces deux types de perturbations sont indépendantes de la cavitation. Etant donné, comme nous l'avons également démontré, que ces deux types de tourbillons sont liés à la présence des lacunes aérifères, nous déduisons que les inhibitions de cyclose sont dues à la présence de phases gazeuses préformées.

4) RÔLE DES GAZ DISSOUS.

En étudiant précédemment le rôle de divers facteurs physiques, nous avons vu que la cavitation, sans être une condition nécessaire, est un facteur essentiel dans l'action des ultra sons. Compte tenu des fréquences et intensités utilisées nous avons à faire à la pseudo-cavitation, donc cavitation des gaz dissous, et il est évident que la nature de ces gaz peut influencer les résultats expérimentaux. Cette forme de cavitation peut intervenir par voie mécanique ou par voie chimique. Nous avons déjà parlé des effets purement mécaniques en étudiant les modalités d'action des bulles (p 55). En ce qui concerne l'action chimique, en particulier les réactions d'oxydations, le mécanisme actuellement admis est le suivant : au moment de la naissance des bulles gazeuses des charges électriques s'établissent sur leurs parois ; dans un deuxième temps il se produit une décharge accompagnée de la formation d'effluves qui se manifestent par un phénomène de luminescence. De ces décharges électriques résulte une forte ionisation de l'eau avec formation de radicaux libres OH et H, chimiquement très actifs (GRABAR, PRUDHOMME, 1947; GRABAR, VOINOVITCH, PRUDHOMME, 1949; GÜNTHER, 1951, FRENKEL, 1940). Cette action chimique peut être supprimée si le liquide traité est enrichi en gaz carbonique ou en hydrogène. Dans le premier cas le phénomène de luminescence est empêché, dans le deuxième cas l'hydrogène fixe les radicaux libres.

Nous étudions, en fonction de la nature des gaz dissous, le comportement de nos tests, d'une part en considérant une action purement mécanique : les perturbations cellulaires, d'autre part en examinant un test présentant un caractère chimique : la réduction du nitrate d'argent par la cellule.

A :- Les perturbations cellulaires :

Nous reprenons l'observation des cellules d'un filament de *Spirogyra* durant le traitement aux ultra-sons de différentes fréquences. Lors de l'étude du rôle de la fréquence, nous avons classé, selon le degré de perturbation maximum consécutif au traitement en présence de cavitation, les trois fréquences comme suit :

350 Kc : déchirures de membranes.
1000 Kc : émulsion du contenu cellulaire.
3000 Kc : tourbillons intra-cellulaires intenses.

Dans une première série d expériences nous observons les lésions cellulaires qui se produisent durant le traitement en eau dégazée et enrichie par la suite en hydrogène Nous constatons que les perturbations cellulaires observées en fonction de la fréquence sont absolument comparables au schéma précédent L action des ultra-sons n est modifiée ni par une augmentation ni par une diminution des effets produits.

Une autre série d expériences consiste à traiter des filaments d'algues en eau enrichie en gaz carbonique. Dans ce cas l'examen au microscope est moins aisé les bulles qui prennent naissance sont, surtout au début de l'irradiation, très nombreuses, elles augmentent très rapidement de diamètre et de ce fait montent en surface et disparaissent Seules de rares bulles de faible diamètre restent, durant un temps suffisant pour agir en contact avec des cellules. Meme pour des temps d irradiation prolongés, nous n'avons jamais observé de déchirures de membranes ni la formation d'émulsion du contenu cellulaire Les tourbillons intenses qui prennent naissance lors de la fixation des bulles aux membranes cellulaires sont de courte durée l'effet final se traduit par une déformation du chloroplaste spiralé, quelquefois par sa dislocation plus ou moins importante Dans presque toutes les cellules, les tourbillons faibles se produisent comme dans les expériences en eau naturelle ou en eau enrichie en hydrogène. Ces observations sont les mêmes quelle que soit la fréquence utilisée, une classification de ces fréquences selon le degré de destruction atteint n'est plus possible.

B :- **La réduction du nitrate d'argent.**

Nous avons établi que dans ce test les ultra sons agissent par l'intermédiaire d'une phase gazeuse. Une inhibition du pouvoir réducteur a lieu lorsque nous traitons des feuilles (*Elodea* et *Mnium*) en présence de cavitation, mais elle se produit également lorsque nous opérons en l'absence de cavitation à condition que la feuille traitée renferme des phases gazeuses sous forme de lacunes aérifères (*Elodea*)

Cette conclusion conduit au problème du mécanisme d action de la vibration dans le cas d'un test présentant des caractères nettement chimiques. Lorsqu il y a cavitation on est tenté de considérer l'action des ultra sons comme étant de nature chimique par contre, dans le cas d une action par l intermédiaire de phases gazeuses préformées et absence de phases gazeuses

naissantes une action primaire mécanique est plus vraisemblable

Pour les expériences qui suivent nous choisissons des feuilles de *Mnium*. Ce type de feuilles étant dépourvu de méats le facteur phase gazeuse préformée n'intervient pas. L'expérience est réalisée successivement dans les trois conditions suivantes

- traitement en eau naturelle,
- traitement en eau dégazée puis enrichie en gaz carbonique
- traitement en eau enrichie en hydrogène.

Les valeurs relevées au cours de ces expériences (moyennes de 6 expériences) sont réunies sur le tableau suivant

Inhibition du pouvoir réducteur des cellules foliaires de *Mnium* en fonction de la nature des gaz dissous.

Fréquence : 350 Kc

Temps de traitement : 5 minutes

Temps de réaction du nitrate d'argent : 60 minutes

	Valeurs colorimétriques						Valeurs moyennes
Feuilles non traitées (témoins)	24,0	25,7	23,1	26,6	24,8	23,4	**24,6**
Feuilles traitées en eau naturelle	14,4	13,9	12,8	14,9	13,4	15,8	**14,2**
Présence de gaz carbonique							
Feuilles non traitées	23,0	24,0	25,3	22,5	26,0	23,2	**24,0**
Feuilles traitées	18,0	19,1	20,2	21,4	20,0	18,9	**19,6**
Présence d'Hydrogène							
Feuilles non traitées	21,8	26,1	24,2	24,2	25,1	21,4	**23,8**
Feuilles traitées	17,0	17,1	14,1	13,9	15,5	15,4	**15,5**

Ces résultats permettent les conclusions suivantes

1) en l'absence de traitement aux ultra sons la nature des gaz dissous ne perturbe pas le test étudié. Les valeurs moyennes 24,6 24,0, 23,8 ne sont pas significativement distinctes

2) Le pouvoir réducteur des feuilles traitées en présence d'hydrogène est diminué de la même manière que celui des feuilles traitées en eau naturelle (comparaison de valeurs 15,5 et 14,2). La présence d'hydrogène ne modifie donc rien

3) A la suite du traitement en présence de gaz carbonique nous constatons une inhibition partielle des effets de la cavitation (comparaison des valeurs 19,6 et 14,2).

Ces résultats sont favorables à l'interprétation d'une action des ultra-sons par voie mécanique. Si dans ce test la cavitation agissait par voie chimique, la présence d'hydrogène devrait inhiber son action, mais ceci ne se produit pas. Le gaz carbonique modère dans une certaine mesure l'effet de cavitation, mais ceci n'exclue pas l'interprétation d'un effet de cavitation par voie mécanique, car nous avons vu précédemment (perturbations cellulaires de *Spirogyra*) que ce gaz diminue aussi une action purement mécanique.

Nous pouvons donc conclure que les inhibitions de la réduction du nitrate d'argent sont consécutives à une action primaire de nature mécanique.

DISCUSSION

Nous avons montré que le mode d'action des ultra-sons est étroitement lié à la présence ou à l'absence de phases gazeuses. Nous avons distingué trois conditions de traitement

- absence de cavitation aucune phase gazeuse n'est présente,
- cavitation
- présence de phases gazeuses préformées en l'absence de cavitation.

1) *Absence de cavitation aucune phase gazeuse n'est présente*

En étudiant les altérations morphologiques qui se manifestent dans les cellules de *Spirogyra* traitées en l'absence de cavitation nous avons conclu d après nos observations, à des perturbations de nature thermique ce sont les augmentations de volume des grains d amidon du chloroplaste du noyau la dégradation du plaste en particules sphériques, finalement la coagulation de tout le contenu cellulaire.

Ces divers aspects morphologiques ont été décrits par LEPESCHKIN (1937) comme des degrés d'altérations thermiques observés entre 35 et 45°. KÜSTER (1937) mentionne la dégradation du chloroplaste spiralé en particules sphériques à une température de 42°. D'autre part LINSBAUER (1929) GUILLIERMOND (1932) LEPESCHKIN (1937), signalent que ces divers stades d'altérations peuvent aussi être provoqués par voie mécanique il suffit de soumettre un filament de *Spirogyra* monté dans de l'eau entre lame et lamelle, à une succession de faibles pressions sur la lamelle.

Dans nos expériences ces deux facteurs, effets thermiques et effets mécaniques sont donc susceptibles d intervenir. Par voie mécanique les ultra sons peuvent agir, en l'absence de cavitation, grâce aux variations de pression qui se manifestent dans un milieu soumis à la vibration. Nous avons montré que les perturbations en question sont, pour une même intensité ultra-sonore, plus importantes à 3000 Kc qu'à 350 sachant qu'à même intensité ultra sonore l'amplitude de pression reste constante, indépendamment de la fréquence il nous paraît difficile d'admettre que les lésions observées sont déclenchées uni-

quement par voie mécanique. Par contre lorsqu à meme intensité la fréquence croit l échauffement par absorption augmente mais ceci n est vrai que lorsque le milieu traité est en cavitation.

Dans nos expériences nous opérons en l'absence de cavitation dans ce cas un effet thermique peut se manifester par friction Cet effet se produit lorsque la vibration traverse deux milieux différents par leur impédance acoustique ce qui certainement est le cas entre l'eau et la cellule immergée et même entre les différents constituants cellulaires. D'autre part nous avons montré que des perturbations de même nature que celles obser vées durant l'irradiation peuvent être provoquées par une aug mentation de la température du milieu d'immersion des cellules et que l'ordre d'efficacité des fréquences peut être rompu de cette manière.

Ces observations nous font admettre que si les deux effets mécaniques et thermiques peuvent intervenir, l'effet thermique est certainement prépondérant.

2) *Le milieu traité est en cavitation.*

Lorsqu'on opère en présence de cavitation, des actions mécaniques puissantes se manifestent par l'intermédiaire des phases gazeuses libérées, nous savons également que les manifestations thermiques deviennent plus importantes qu'en l'absence de cavitation. L'observation montre qu'en réalité il est facile de distinguer le rôle respectif de ces deux facteurs. Chacun d'eux exerce un type d'altération bien caractérisé tourbillons intracellulaires et déchirures de membranes dans le cas d'actions mécaniques, gonflement et coagulation des constituants cellulaires dans le cas d'effets thermiques. D'autre part les actions mécaniques sont immédiates alors que les perturbations de nature thermique sont lentes.

L'observation des bulles de cavitation nous a permis de discerner deux phases essentielles dans la vie d'une bulle action au moment de sa naissance ou de sa disparition, action lorsque la bulle est visible et de dimension variée.

Dans le premier cas, lorsqu'une action mécanique violente et très rapide a lieu, la bulle n'est pas visible, mais nous avons tout lieu d'admettre sa présence, pour plusieurs raisons : l'action se produit au niveau d'un ventre de pression, donc là où naît la bulle; ce type d'action, tourbillon et déchirure, est identique à celui que l'on observe en présence de bulles visibles; en milieu dégazé le phénomène ne s'observe pas. Ce type

d'action à caractère explosif a été observé par bien des auteurs HARVEY et LOOMIS (1931) étudient par micro cinématographie la destruction explosive d oeufs d oursins ils constatent que la cavitation est nécessaire mais aucune bulle n'est visible SCHMITT et UHLENMEYER (1930) JOHNSON (1929) observent la destruction de paramécies leurs conclusions sont les mêmes. GOLDMAN et LEPESCHKIN (1952) constatent qu en régime d'ondes stationnaires les destructions cellulaires (*Spirogyra Elodea* Infusoires globules rouges) se produisent au niveau des ventres de pression, lorsque le milieu est en cavitation.

Dans une certaine mesure nos conclusions sont en accord avec ces derniers auteurs mais nous observons également des actions intenses de cavitation au niveau des noeuds de pression. nous reviendrons plus loin sur ce fait.

Ces diverses observations d'actions rapides et intenses liées à la cavitation présentent une grande analogie avec les études faites par RUTENBERG (1941) sur l'érosion de surfaces métalliques par les ultra-sons l'auteur observe, au microscope une altération visible du métal à l'endroit précis où une bulle de cavitation disparaît par résorption.

Tous ces arguments sont donc très favorables à l'interprétation d une action ultra-sonore liée à la présence de bulles de cavitation qui échappent à l observation. tant par leur faible dimension que par la vitesse à laquelle se succèdent les phases de naissance et de disparition.

En observant des cellules (*Spirogyra*). traitées en régime d'ondes stationnaires. nous avons aussi constaté que des altérations cellulaires se produisent, par l intermédiaire de bulles de cavitation visibles. au niveau des noeuds de pression. Ces résultats sont en accord avec les observations de ANGERER (1949) qui constate. par l'étude de l'hémolyse de l'inhibition de la germination de pois, des lésions produites sur des têtards qu'en cas de cavitation. l'action est localisée au niveau des noeuds et produite par des bulles visibles

ROSSBERG (1959) constate que l'évolution de l'hémolyse est déterminée par la formation de bulles visibles qui oscillent dans l'eau au niveau des noeuds RUST et FEINDT (1951) montrent que dans l'hémolyse le facteur essentiel est la présence de bulles gazeuses vibrant en résonance sur la fréquence ultrasonore.

Ces divers résultats sont apparemment en contradiction avec les observations de GOLDMAN et LEPESCHKIN, cités plus haut, qui constatent un maximum d'action au niveau des ventres de pres-

sion. En ce qui concerne nos propres observations (*Spirogyra* traité en régime d'ondes stationnaires) nous avons vu des altérations cellulaires tant au niveau des noeuds qu'au niveau des ventres, mais nous avons précisé que ce sont deux modalités d'action nettement distinctes : les perturbations qui se produisent au niveau des ventres sont très intenses et rapides présentent souvent un caractère explosif, sont très rares par contre, au niveau des noeuds, des actions analogues bien moins rapides (il est facile de suivre au microscope les étapes successives de destruction : tourbillons, émulsion, déchirures) se produisent fréquemment.

Par conséquent nos conclusions sont en accord avec celles formulées par ANGERER, RUST et FEINDT, ROSSBERG : action considérable au niveau des noeuds de pression par l'intermédiaire de bulles visibles provenant de la cavitation mais accumulées aux noeuds

Dans le phénomène de la cavitation il nous paraît donc important de distinguer :

- d'une part les effets directement liés à la naissance d'une bulle : arrachement moléculaire ayant pour conséquence des phénomènes électriques (décharges) responsables des actions chimiques (GRABAR, PRUDHOMME) et des effets mécaniques intenses (ondes de compression ou ondes de choc) indispensables pour réaliser certaines actions physiques (érosion de métaux) mais rares dans des actions sur la cellule;

- d'autre part les effets de bulles adultes, visibles chimiquement inactives, mais produisant des actions mécaniques importantes. Dans des actions biologiques en particulier dans l'action sur un tissu, nos observations mettent en évidence que c'est essentiellement à ce type de bulle qu'est due l'efficacité des ultra-sons.

3) *Présence de phases gazeuses préformées en l'absence de cavitation.*

Si nous considérons le deuxième cas précédemment cité : effets de bulles adultes, nous pouvons dire qu'à ce moment ce n'est plus la cavitation au sens plein du mot qui intervient : une phase gazeuse d'autre origine peut produire dans un champ ultra-sonore, des effets comparables sur la cellule. Nous avons démontré ce principe par des expériences variées

- en l absence de cavitation, mais en présence de phases gazeuses préformées (lacunes aérifères, bulles apportées) on observe dans les cellules d *Elodea* et de *Mnium* des actions mécaniques comparables à celles d une bulle de cavitation nous avons démontré le role des lacunes aérifères (*Elodea*), des cellules mortes renfermant de l air (*Mnium*), d une bulle apportée (*Mnium*) Les diverses localisations des lésions sur la feuille d'*Elodea* montrent un lien entre la fréquence et la taille efficace du méat

- l inhibition de la cyclose des cellules foliaires d'*Elodea* a fourni un test précieux grâce à sa sensibilité accrue sous l influence du vieillissement des plantes Sa réponse à des énergies ultra sonores très faibles permet d exclure toute intervention de cavitation Seuls les méats intercellulaires déclenchent des tourbillons d où résulte l inhibition temporaire de la cyclose Nous ne comprenons pas encore pourquoi, parmi ces effets d inhibition liés à des tourbillons produits par des phases gazeuses, deux catégories se dessinent nettement inhibitions favorisées par la fréquence basse au voisinage de tourbillons intenses inhibitions favorisées par la fréquence élevée au voisinage de tourbillons faibles On ne voit absolument pas pourquoi il y a deux catégories et non pas de transitions graduelles

- l inhibition de la réduction du nitrate d'argent par la cellule est étroitement liée à une action de phases gazeuses, bulle de cavitation méat ou bulle apportée (*Elodea*, *Mnium*). Lorsque la cavitation intervient les fréquences basses (350 Kc) sont plus actives que les fréquences élevées (3000 Kc) Cet ordre d'efficacité des fréquences est inversé si la cavitation est empêchée (dégazage) et la présence des méats maintenue si dans cette condition, l on soumet la feuille à une dépression (augmentation du volume du méat) la fréquence basse redevient plus active que la fréquence élevée Malgré le caractère chimique de l'effet observé dans le test du nitrate d argent, l'effet primaire doit être mécanique

  - parce que l'effet de méat en l absence de toute cavitation ne peut etre interprété que comme une action mécanique
  - parce que l hydrogène ne modifie en rien l effet tandis que le gaz carbonique qui agit sur tous les effets de bulles, a une action positive sur le test.

L'analyse de ces diverses modalités d'action des phases gazeuses met bien en évidence la complexité de la notion de cavitation. Nous venons de présenter, schématiquement, les résul-

tats et conclusions de nos investigations, mais il importe de préciser que d'autres modalités d'action sont encore possibles RAJEWSKY, HUG et PAPE (1954) en étudiant le mécanisme d'action des ultra-sons sur des tissus animaux (cerveau, foie) concluent à l'apparition d'une pseudo-cavitation inter-cellulaire de nombreuses bulles gazeuses, de dimensions variées (pouvant atteindre jusqu'à 100 μ de diamètre) apparaissent au niveau de séparation marquant une discontinuité des propriétés acoustiques des tissus Ces phases gazeuses agissent mécaniquement sur les cellules environnantes Dans ce cas il ne s'agit donc pas d'une cavitation au sens usuel du mot mais plutôt d une dislocation de tissus accompagnée de l'apparition de phases gazeuses Nous ne savons pas si ces phases agissent au moment de leur naissance, comme des bulles de cavitation naissantes ou si elles sont actives après leur formation, comme des bulles de cavitation visibles, des bulles préformées ou des méats Dans ce cas il s'agit d'un type de phase gazeuse dont nous n'avons jamais observé l'apparition dans des tissus végétaux, mais il nous est tout de meme possible de le situer dans le schéma que nous avons précédemment énoncé.

L'énumération de tous ces faits montre bien que la présence de phases gazeuses, sous des formes très variées joue un rôle prépondérant dans l'action des ultra sons Il est certain que la cavitation joue un rôle essentiel, mais il est certain aussi qu'en l'absence de cavitation des phases gazeuses d'autre origine peuvent intervenir très efficacement et produire des actions mécaniques comparables à celles des bulles de cavitation

RESUME

Dans le domaine de la biologie animale et végétale des effets très variés consécutifs à l action des ultra-sons sont connus Les modalités d action le rôle des divers facteurs physiques intervenant au cours de ces traitements posent encore de nombreux problèmes Par nos recherches nous avons analysé certains aspects de cette question et nous avons employé les tests suivants

- lésions cellulaires observées au microscope durant le traitement
- inhibition de la cyclose dans les cellules foliaires d'*Elodea*
- inhibition de la réduction du nitrate d'argent par la cellule.
- stimulation d'amylo-synthèse *in vitro*.

Voici les résultats nouveaux apportés par nos expériences

1° L observation du comportement des cellules durant l'irradiation nous permet de classer les lésions cellulaires commeindiqué ci-après

a) *effets rapides* différents types de tourbillons intracellulaires émulsion du contenu cellulaire déchirures de membranes.

b) *effets lents* renflement des inclusions cellulaires coagulation.

2° L'effet favorable de la cavitation est très net pour les lésions cellulaires rapides de diminution de pouvoir réducteur, de stimulation d'amylo synthèse Par contre les effets observables en l'absence de cavitation posent un problème si les effets cellulaires lents peuvent être considérés comme des effets thermiques, en revanche d'autres effets (tourbillons chez *Elodea* inhibition de cyclose, diminution du pouvoir réducteur chez *Elodea*) donnent lieu à une analyse de l'action des phases gazeuses préformées (voir ci dessous les points 4°, 5° 6°, 7°).

3° L'action de la fréquence ultra-sonore a été étudiée dans trois cas :

a) *lésions cellulaires* : efficacité plus grande des fréquences basses (350 Kc) pour la réalisation des lésions rapides liées à la cavitation ; en revanche, efficacité plus grande des fréquences élevées (3000 Kc) pour la réalisation des lésions lentes (qui sont certainement de nature en grande partie thermique car l'élévation de la température permet de les réaliser sans irradiation ultra-sonore et favorise aussi leur apparition sous des irradiations de fréquences peu favorables : 350 Kc).

b) *inhibition du pouvoir réducteur* : on retrouve la même action favorable des fréquences basses en cas de cavitation. Par contre la suppression de la cavitation favorise l'action des fréquences élevées ; l'interprétation proposée, attribuant dans ce cas l'inhibition aux méats intercellulaires (voir également 5°), s'appuye sur les expériences faisant varier la pression durant le traitement (donc aussi les tailles de bulles intra tissulaires) et réalisant par là l'inversion de l'ordre d'efficacité des fréquences.

c) *inhibition de la cyclose* : dans les cellules foliaires d'*Elodea*, traitées à très faible énergie ultra-sonore (absence de cavitation et des effets rapides liés aux bulles), nous distinguons, indépendamment de la fréquence, des cellules à tourbillons intenses et des cellules à tourbillons faibles (voir 4°), des cellules apparemment non perturbées. L'inhibition de cyclose se manifeste dans les cellules à tourbillons ; sa durée dépend à la fois du type de tourbillon et de la fréquence : dans le cas de tourbillons intenses la fréquence basse est la plus active, dans le cas de tourbillons faibles l'ordre d'efficacité des fréquences est inversé. Dans les deux cas, la durée d'irradiation ainsi que la durée de culture des plantes en conditions artificielles agissent positivement sur les temps d'inhibition.

4° Nous mettons en évidence que plusieurs altérations de la feuille (tourbillons et autres effets cellulaires, inhibitions de cyclose, diminution du pouvoir réducteur) sont liés topographiquement aux méats intercellulaires (démonstration par des expériences de suppression de méats par dégazage).

5° Par apport artificiel de bulles sur des feuilles de *Mnium* nous provoquons durant le traitement des symptômes localisés (tourbillons et déchirures cellulaires inhibition du pouvoir réducteur)

6° L observation des étapes successives de la vie d une bulle de cavitation impose la constatation que des effets cellulaires considérables sont liés à la phase adulte de la bulle (dans ce cas un maximum d action s observe pour une certaine taille de bulle, effet probable de résonance) D autres effets de la bulle ont été observés sur des modèles inanimés (action à distance, induction de systèmes périodiques à fréquence élevée).

7° L observation en régime d ondes stationnaires montre des tourbillons et déchirures cellulaires au niveau des ventres de pression effets immédiats liés à la naissance ou à la disparition d une bulle de cavitation (bulle invisible mais très certaine vu l expérience de dégazage qui supprime tout effet) Des altérations cellulaires du meme type sont plus fréquentes au niveau des noeuds de pression (effets de bulles visibles, localisées à cet endroit)

8 Les divers effets attribués à des bulles préformées (voir les points 4° et 7) sont considérés comme des effets initialement mécaniques et non chimiques, parce que meme avec le test le plus chimique d apparence (diminution du pouvoir réducteur) on ne constate pas de différence d action en présence d'hydrogène sous forme de gaz dissous (gaz connu comme hostile aux actions chimiques des ultra sons) En présence de gaz carbonique (gaz considéré comme inhibiteur à la fois des actions chimiques et des actions mécaniques: une diminution de l action ultra sonore, sur ce test, se manifeste significativement

9° L'action des ultra sons sur un milieu contenant de la phosphorylase et du glucose 1 phosphate produit si l irradiation ne dépasse pas une quarantaine de minutes, une augmentation de la synthèse d'amidon (voir ci dessus l'effet considérable de la cavitation) Le résultat étant de meme ordre selon que l irradiation est faite sur la préparation enzymatique avant ou après le mélange avec le substrat on conclue que l'action ultra sonore ne s'exerce pas sur la réaction en cours

Il n'est donc pas question ici d une stimulation thermique de la réaction On pensera donc à un effet mécanique exercé sur la molécule sans exclure la possibilité d un effet de friction au même niveau.

BIBLIOGRAPHIE

ACKERMANN, E., 1952 Resonant effects of Mammalian Erythrocytes in ultrasonic fields. *J. Accoust. Soc. Amer.* **24**, 118.

ANGERER, O.A., 1949, *Naturwiss.* **36**, 217.

ANGERER, O.A. 1954 Beobachtungen im stehenden Ultraschallwellenfeld. *Strahlentherapie*, **93**, 54.

ANGERER O.A., BARTH, G. et WINKLER G. 1950 Uber den Wirkungsmechanismus biologischer Ultraschallreaktionen Ultraschallhamolyse. *Strahlentherapie* **82**, 461.

BACHNER H., 1950 Uber die wachstumfordernde Wirkung des Ultraschalls auf Erbsenkeimlinge, untersucht am Längenwachstum und an Hand histologischer Untersuchungen. Dissertation, Erlangen.

BARKER S.A., BOURNE, E.J., WILKINSON, I.A., PEAT S. 1950 The enzymic synthesis and degradation of starch. The properties of purified P and Q enzymes. *J. Chem. Soc. London* **84**,.

BECKEWITH, T.D. et WEAVER, C.E., 1936 Sonic energy as a lethal agent for yeast and bacteria. *J. Bacteriology*, **32**, 361.

BERCY, A., 1951, De l'action léthale des ultrasons sur les tissus vivants. *Acta Physiotherapica et Rheumatologica*. **6**, 168.

BERGMANN, L., 1954, Der Ultraschall. S. Hirzel, ed., Stuttgart.

BUSNEL, R.G. et CHAVASSE, P., 1950 Recherches sur les émissions sonores et ultra-sonores d'Orthoptères nuisibles à l'agriculture. Etude des fréquences. *Nuovo Cim.* **7**, 470.

CARLIN, B., 1949, Ultrasonics, Mc Graw-Hill.

CARUSO C., 1938, La réaction de la vitamine C dans les cellules végétales mortes. *Protoplasma*, **30**, 481.

DAWYDOW, G.K., 1940, Wirkung des Ultraschalles auf die Samen der Zuckerrübe. *C.R. (Doklady) Acad. Sci.* **29**, 491.

DELSAL, J.L. et MANHOURI, H., 1958 *Bull Soc. Chim. Biol* **40**, 11.

DISCHENDORFER, O., 1937, Über den histochemischen Nachweiss von Vitamin C un Pflanzen. *Protoplasma*, **28**, 516.

DOGNON, A., 1953 Les ultra-sons et leurs applications. Presses Universitaires. Paris.

DOGNON, A. et BIANCANI, E.H. 1937 Ultra-sons et Biologie, éd. Gauthier-Villars, Paris.

DOGNON, A. et SIMONOT, Y., 1953 Cavitation et réactions chimiques. *J. Chim. Phys.* **50**, 94.

ERTL, O., 1939. Über die Silbernitrat Reduktion der Plastiden. *Protoplasma*, **33**, 275.

ESCHE, R. 1952 Untersuchungen zur Ultraschallabsorption in tierischen Geweben und Kunststoffen. *Akustische Beihefte*, **71**.

FRENKEL J. 1940 On electrical phenomena associated with cavitation due to ultrasonic vibrations in liquids. *Acta physicochim. (USSR)* **12**, 317.

FUCHTBAUER, H. et THEISMANN, H., 1949 Zur Wirkung des Ultraschalls auf Bacterien. *Naturwiss.* **36**, 346.

GALAMBOS, R., 1942 The avoidance of obstacles by flying bats : Spallanzanis ideas and later theories. *Isis*, **34**, 132.

GALAMBOS, R. et GRIFFIN, D.R., 1942 Obstacle avoidance by flying bats : the cries of bats. *J. exper. Zoology*, **89**, 475.

GAUTHERET, R.J., 1935. Recherches sur la formation de chlorophylle dans les racines et la réduction des sels d'argent par les chloroplastes. *Rev. Gén. Bot.* **47**, 401.

GILBERT, G.A. et PATRICK, A.D., 1952 Separation and cristallization of Q enzyme. *Biochem. J.* **51**.

GIROUD, A., 1938 L acide ascorbique dans les cellules et les tissus. *Protoplasma Monographien* **16**.

GOLIMAN, D.E. et LEPESCHKIN, W.W., 1952 Effects of ultrasound on cell structure. *J. of cellular and comparative physiology*, **40**, 383.

GRABAR, P., 1950, *C. R. du Congrès de Rome*, 487.

GRABAR, P. et PRUDHOMME, R., 1947 Action des ultrasons sur les macromolécules. *J. Chim. Phys.* **44**, 145.

GRABAR, P. et PRUDHOMME, R.O., 1948 Sur le mécanisme de certaines actions chimiques des ultrasons sur des corps en solution aqueuse. C.R. Ac. *C.R. Acad. Sci.* **226**, 1821.

GRABAR, P. et ROUYER, M., 1945 La désintégration des microbes par les ultrasons. *Ann. de l'Institut Pasteur*, **71**, 154.

GRABAR, P., VOINOVITCH, I. et PRUDHOMME, R., 1949 Action des ultrasons sur une oxydase. *Biochim. et Biophys. Acta*, **3**, 412.

GRIFFIN, D.R., 1946 Supersonic cries of bats. *Nature* **158**, 46.

GRIFFIN, D.R., 1950 Measurements of the ultrasonic cries of bats. *J. Acoust. Soc. Amer.* **22**, 247.

GRIFFIN, D.R., et GRINNELL, A.D., 1958, *Science*, **128**, 145.

GUILLIERMOND, A., 1932 La structure de la cellule végétale. Les inclusions du cytoplasme et en particulier les chondriosomes et les plastes. *Protoplasma*, **16**, 291.

GUILLIERMOND, A., 1932 La structure des cellules végétales à l ultra microscope. *Protoplasma*, **16**, 454.

GUNTHER, P., 1951 Chemische Ultraschallwirkungen in Lösungen. *Angew Chemie*, **63**, 241.

HAGENE P. et GOAS M. 1946 Sur certains phénomènes de la nécrobiose des chloroplastes. *C R. Ac Sci* **223** 253.

HAGENE P. et GOAS M. 1949 Recherches sur la nécrobiose des chloroplastes. *Rev Gén. Bot* **56**, 429.

HAMBRE D. 1949 The effects of ultrasonic waves upon *Klebsiella pneumoniae*, *Saccharomyces cerevisae*, *Miyagawanella felis* and *Influenca virus* A. *J Bacteriology* **57**, 279.

HANES Ch.S. 1940 The reversible formation of starch from glucose 1 phosphate catalised by Potato phosphorylase. *Proc Roy Soc.* B **129**, 174.

HANES Ch.S. et CATTLE M. 1938, Starch iodine coloration as an index of differential degradation by the amylases. *Proc. Roy. Soc.* B **125**, 387.

HARVEY E.N. et LOOMIS, A.L. 193 High speed photomicrography of living cell subjected to the supersonic vibration. *J Gen Physiol* **15**, 147.

HASKELL G. et SEIMAN G.G. 1950 Studies with sweetcorn III. The primary effects of treating seeds with ultrasonics. *Plant and Soil* **2**. 359.

HAUSSMANN H.G. KEHLER H. KOCH A. 1952 Elektronenmikroskopische Beobachtungen an Wärme- und ultraschallbeschädigten Bakterien. *Z f Hygiene* **134**, 565.

HERCIK F. HRDLHICKA M. et SPINDRICH J. 1942 Die biologische Wirkung des Ultraschalls. *Sborn. Lék.* **44**, 15.

HESSE R. 1952 Zur Wirkung der Ultraschall Behandlung von Samen auf die Keimung und das nachfolgende Wachstum von Pflanzen. *Flora* **139**, 565.

HIEDEMANN E. 1939 Grundlagen und Ergebnisse der Ultraschallforschung Berlin, (ed. Gruyter).

HOMPESCH H. 1950 Untersuchungen zum Mechanismus der bakteriziden Wirkung der Ultraschallwellen. *Nuovo Cim.* **7**, 498.

ISTOMINA O. et OSTROVSKIH, E. 1936 Der Einfluss der Ultraschallwellen auf die Entwicklung der Pflanzen. *J. Techn. Phys.*, **6**, 2065.

JOHNSON, C.H., 1929, *J. Physiology*, **67**, 356.

KÖNIG R. 1899, Über die höchsten hörbaren und unhörbaren Töne von 4096 bis 90000 Schwingungen. *Ann. Phys. Lpz* **69**, 626, 721.

KÜSTER, E., 1937, Pathologie der Pflanzenzelle. Vol. 2, Berlin.

KÜSTER E., 1952 Beobachtungen über die Wirkungen des Ultraschalls auf lebende Pflanzenzellen. *Öst. Akad. Wiss. Mathem. naturw. Kl* Abt. I, Bd. **2**, 3, 161.

LANGEVIN P. et CHILOWSKY C. 1916 Procédés et appareils pour la production de signaux sous-marins dirigés et pour la localisation à distance d'obstacles sous-marins. Brevet français 502 913.

LEHMANN, J., 1949. *Strahlentherapie*, **79**, 533.

LEPESCHKIN W.W. 1937 Zell Nekrobiose und Protoplasma-Tod. *Protoplasma*, Monographien, **12**. Berlin.

LINSBAUER, K., 1929 Untersuchungen über Plasma und Plasma-Strömungen an Chara-Zellen. *Protoplasma*, **5**, 563.

LOEW, O. et BOKORNY, T., 1882 Die chemische Kraftquelle im Protoplasma. Munich.

LOZA, J., 1949 Actions des ultrasons sur les graines et les plantules des végétaux supérieurs. *C R Ac. Sci.* **228**, 593.

MARINESCO, N., 1937. Propriétés des ultra-sons. Hermann.

MIRIMANOFF, A., 1938 A propos de la réaction de Molisch. *Rev. gén. Bot.* **50**, 333.

MIRIMANOFF A., 1938 Signification de la réaction de Molisch. *C R Ac. Sci.* **206**, 1038.

MOHRES, F.P. et KULZER, E., 1956. *Z. vergl. Physiol.* **38**, 1.

MOLISCH H. 1918 Das Chlorophyllkorn als Reduktionsorgan. *Sitz. Ber. Ak. Wiss. Wien, Math. Natur. Kl.* **1**, 127.

NAGAI 1954 The reduction of Silver Nitrate by Plant Cells particularly by Chloroplasts. *Protoplasma*, **44**, 444.

OBOLENSKY G., 1957 Diverses actions des ultra-sons en biologie. *Année biologique*, **33**, 465.

OBOLENSKY, G., 1958 Recherches sur quelques stimulations fonctionnelles chez les plantes par ultra-sons. *Rev. Gén. Bot.* **65**, 297.

PIELEMEYER W.H. 1949 Analysis of bat's warning cry. *J. Acoust. Soc. Amer.* **21**, 551.

PIERCE, G.W., 1925 Piezo electric oscillators applied to the precision measurement of sound in air and carbon dioxyde at high frequencies. *Proc. Amer. Acad. Boston*, **60**, 271.

PIGMAN W.W. et GOEPP R.M. 1948 Chemistry of the carbohydrates. New-York.

PFEFFER, W., 1889 LOEW und BOKORNY'S Silberreduktion in Pflanzenzellen. *Flora*, **47**, 46.

PFIRSCH, R., 1952 Mouvements tourbillonnaires provoqués par les ultra-sons sur le contenu de cellules artificielles. *J. Phys. Rad.* **13**, 26.

PFIRSCH, R. 1956 Action comparée des ultra sons de 350 et 3000 Kc sur la cyclose des cellules de feuilles d'*Elodea*, *C.R. Ac. Sci.* **242**, 1061.

PFIRSCH, R., 1956 Influences diverses exercées sur la sensibilité du pouvoir de cyclose des cellules foliaires d'*Elodea*, *C.R. Ac. Sci* **243**, 786.

PFIRSCH, R., 1957 Influence des ultra sons de différentes fréquences sur la réduction du nitrate d argent par les cellules foliaires d'*Elodea* et de *Mnium*. *C.R. Ac. Sci.*, **245**, 2361.

PFIRSCH, R., 1958 Role des méats gazeux dans l action des ultra sons sur les cellules foliaires d'*Elodea* et de *Mnium*. *C.R. Ac. Sci* **247**, 349.

PFIRSCH, R., 1959 Action des ultra sons sur le pouvoir réducteur des cellules foliaires d'*Elodea* : rôle des méats, rôle de la fréquence ultra-sonore. *C.R. Ac. Sci.* **248**, 450.

PFIRSCH R., 1960 Mode d'action des ultra sons sur le pouvoir réducteur des cellules végétales. *C.R. Ac. Sci.* **250**, 1102.

POHLMAN, R., 1939 Uber die Absorption des Ultraschalls im menschlischen Gewebe und ihre Abhängigkeit von der Frequenz. *Phys. Z.* **40**, 159.

POHLMAN, R., 1948 Die Ultraschalltherapie. Quantitative Angaben zu ihrem Wirkungsmechanismus. *Dtsch. med. Wschr.* **73**, 273.

POHLMAN, R., RICHTER, R. et PAROW E., 1939 Uber die Ausbreitung und Absorption von Ultraschall im menschlichen Gewebe und seine therapeutische Wirkung an Ischias und Plexus Neuralgie. *Dtsch med Wschr* **65**, 251.

PRUDHOMME, R.O., 1949, Action chimique des ultra-sons. *J Chimie Phys* **46**, 318.

PRUDHOMME, R.O. et GRABAR, P., 1949, De l'action chimique des ultra sons sur certaines solutions aqueuses. *J. Chimie Phys.* **46**, 323.

RAJEWSKY, B., HUG, O. et PAPE, R., 1954, Zur Frage der Ultraschall Kavitation im Gewebe. *Z. Naturf.* **9**, 10.

RAUSER, V. et TRNKA, A., 1958, Untersuchungen über die durch Ultra schall hervorgerufenen Sofortveränderungen in der Zelle. *Biologia plantarum*, **1**, 63.

ROSE, M., SAVORIN, J. et CASANOVA, J., 1948, Sur l'émission d'ondes ultrasonores par les Abeilles domestiques. *C.R. Ac. Sci.* **227**, 912.

ROSSBERG, L., 1959, Zur hämolisierenden Wirkung von Impulsschall. *Strahlentherapie*, **110**, 4.

RUBAN, J.L. et DOLGOPOLOW, N.N., 1953, Sur l'action des ondes ultrasonores sur les premières phases du développement des plantes. *C R Ac. Sci. URSS*, **84**, 623.

RUST, H.H. et FEINDT, W., 1951, *Naturwiss.* **36**, 217.

RUTENBERG, T., 1941, *Z. Metallk.* **33**, 145.

SCHALLER, F. et TIMM, C., 1949 Schallreaktionen bei Nachtfaltern. *Experimentia*, **5**, 162.

SCHMITT, P.O. et UHLENMEYER, B., 1930, The mechanism of the letal effect of ultrasonic radiation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **27**, 626.

SKUDRZYK, E., 1949 Die mechanisch biologische Wirkung des Ultraschalls auf Grund der Analogie zwischen Schall und Warme. *Acta Physica Austriaca*, **3**, 56.

SMITH F.D., 1935 On the destructive mechanical effects of the gas bubbles liberated by the passage of intense sound through a liquid. *Phil. Mag.*, **19**, 1137.

SPENCER, J.L., 1952 Effects of intense ultrasonic vibrations on *Pisum*. Effects of growth and inheritance. *Growth*, **16**, 255.

STOCKEBRAND, A., 1952 Einwirkung von Ultraschall auf Keimung und Wachstum der Zuckerrube. *Z. Acker- u. Pflanzenbau*, **95**, 401.

SUTRA, R., 1951 Action des ultrasons sur l amidon. *C. R. Ac. Sci.* **232**, 1490.

SZALAY A., 1933 Dépolymérisation de l amidon par les ultra-sons. *Z. Phys. Chem.* **164**, 234.

SZENT GYORGY, 1944 Dépolymérisation de l amidon par les ultra-sons. *Nature*, **131**, 278.

VELTMAN, G. et WOEBER, Kh., 1950 Untersuchungen uber die biologische Dosierung des Ultraschalls an Bakterien. *Nuovo Cim.* **7**, 525.

WEIBULL, C. et TISELIUS, A., 1945 A study of the starch phosphorylase of potato. *Arkiv. Kem. Mineral., Geol.*, **A 19**, 25.

WEIER, 1938 Factors affecting the reduction of silver nitrate by chloplasts. *Am. J. Botany*, **25**.

WHELAN, W.J. et BAILEY, J.M., 1954 The action pattern of potato phosphorylase. *Biochem. J.* **58**.

WOOD, R.W. et LOOMIS, A.L., 1927 Physical and biological effects of high frequency sound wawes of great intensity. *Phys. Rev.* **29**, 373.

YAWOI, H. et HAKAHARA, W., 1934 Effect of short exposure to supersonic wawes on vaccine virus and some bacteria. *Jap. exp. Md.* **12**, 131.

TABLE DES MATIERES

Pages

INTRODUCTION.

Généralités sur les ultra-sons 7

Production des ultra sons 8

Principaux effets physiques des ultra-sons 9

Actions biologiques des ultra-sons 12

Méthodes physiques 14

CHAPITRE I

LES DIVERS TESTS UTILISES 22

1 - Observations au microscope des perturbations cellulaires 22

2 - Inhibition de la cyclose dans les cellules de feuilles d *Elodea* 29

3 - Inhibition de la réduction du nitrate d'argent .. 36

4 - Action des ultra sons sur l'amylo-synthèse *in vitro* 42

CHAPITRE II

LES MECANISMES D'ACTION : ROLE DE DIVERS FACTEURS PHYSIQUES 53

I - *Rôle de la cavitation* 53

A - Les perturbations cellulaires : *Spirogyra* 53

Mode d'action des bulles de cavitation 55

Localisation des effets de bulles en régime d'ondes stationnaires 56

Perturbations cellulaires observées sur des feuilles d *Elodea* et de *Mnium* 58

B - L'inhibition du nitrate d'argent par la cellule 59

C - L'amylo-synthèse 62

pages

I.- *Rôle de la fréquence* 66

A Les perturbations cellulaires : *Spirogyra* 66

Effets thermiques 67

B.- Inhibition de la cyclose dans les cellules d'*Elodea* 70

C La réduction du nitrate d argent par la cellule 75

III. *Rôle des phases gazeuses préformées* 80

a - Les perturbations cellulaires : *Spirogyra* 80

Expériences sur modèles artificiels 81

Feuilles de *Mnium*. Feuilles d'*Elodea* 84

L'effet d'écran de la cavitation 85

b - La réduction du nitrate d'argent 89

Mode d'action des méats 91

c - Inhibition de la cyclose dans les cellules d'*Elodea* 92

IV.- *Rôle des gaz dissous* :..... 93

A - Les perturbations cellulaires 93

B.- La réduction du nitrate d'argent 94

DISCUSSION 97

RESUME 103

BIBLIOGRAPHIE 106

D E U X I E M E T H E S E

Propositions données par la Faculté :

Le Rôle des Facteurs externes et internes dans le Déterminisme de la Migration des Poissons

Strasbourg, le 2 mai 1962

Le Président de Thèse
J.H. Vivien

Vu :

Strasbourg, le 2 mai 1962

Le Doyen
J.H. Vivien

Vu et permis d'imprimer :

Strasbourg, le 3 mai 1962

Le Recteur de l'Académie de Strasbourg
Président du Conseil de l'Université

J.F. Angelloz